



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS**

### **CARRERA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA**

#### **“INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE EXPENDIO DE LOS CEVICHE DE CHOCHOS COMERCIALIZADOS EN LA PARROQUIA VELASCO-RIOBAMBA SOBRE SU CALIDAD MICROBIOLÓGICA”**

##### **Trabajo de Titulación**

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

##### **BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA:** CRISTINA ANABEL CALDERÓN GUIJARRO

**DIRECTORA:** Ing. PAOLA FERNANDA ARGUELLO HERNÁNDEZ M. Sc

RIOBAMBA – ECUADOR

2021

**© 2021, Cristina Anabel Calderón Guijarro**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor

Yo, Cristina Anabel Calderón Guijarro, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Riobamba, 24 de febrero del 2021



**Cristina Anabel Calderón Guijarro**

**060417890-5**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: **“INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE EXPENDIO DE LOS CEVICHE DE CHOCHOS COMERCIALIZADOS EN LA PARROQUIA VELASCO-RIOBAMBA SOBRE SU CALIDAD MICROBIOLÓGICA”**, realizado por la señorita **CRISTINA ANABEL CALDERÓN GUIJARRO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de trabajo de titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Dr. Carlos Pilamunga <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>	 CARLOS PILAMUNGA CAPUS	2020-02-24
Ing. Paola Fernanda Arguello Hernández M. Sc <b>DIRECTORA DE TRABAJO DE TITULACIÓN</b>	 PAOLA FERNANDA ARGUELLO HERNANDEZ	2020-02-24
Dra. Sandra Noemí Escobar Arrieta <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	 Firmado electrónicamente por: <b>SANDRA NOEMI ESCOBAR ARRIETA</b>	2020-02-24

## **DEDICATORIA**

A Dios por ser mi guía y fortaleza.

A mis padres, José y Carmita quienes han luchado día a día porque no me falta nada, demostrándome la importancia del esfuerzo, la dedicación y la humildad, y que nunca han permitido que me dé por vencida en ningún circunstancia de mi vida.

A mis hermanos Karina y José, quienes me han apoyado y ayudado en cada paso que he dado, siendo un pilar fundamental durante toda mi vida.

Cristina.

## AGRADECIMIENTO

A Dios por llenarme de fuerza y serenidad.

A mis Padre José que desde pequeña me ha guiado para ser la persona que soy, por luchar día y noche por mis hermanos y por mí y sobre todo por ofrecer su amor incondicional, siendo mi ejemplo de vida.

A mi Madre Carmita por cuidarme, guiarme, llenándome de ánimos para que nunca me dé por vencida, y aprendiendo día a día de sus enseñanzas, para ser mejor persona.

A mis hermanos Karina y José que me apoyan incondicionalmente en cada decisión tomada, gracias por ser mis cómplices.

A mis abuelitos Mercedes (+), Julio (+), Elisa y Alonso que con su sabiduría me enseñaron a crecer como ser humano.

A los docentes de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, carrera de Bioquímica y Farmacia que me acompañaron en toda mi vida universitaria los cuales compartieron conmigo sus conocimientos, sabiduría y experiencias.

A mis maestras Ing. Paola Arguello, Dra. Sandra Escobar, Dra. Anita Albuja y BQF. Yolanda Buenaño que me acompañaron en todo el proceso de elaboración de mi trabajo de titulación, al igual un agradecimiento especial a mi amiga y compañera Daysi Guevara siendo un apoyo fundamental para la realización de este trabajo.

A mis amigas Gysell, Thalia y Joselyn que desde el primer día de mi vida universitaria estuvieron ahí para darme la mano, y que juntas formamos los recuerdos que llevare conmigo para siempre, y a Christian mi amigo que me brindo su apoyo incondicional.

A mis mejores amigos Nicolle y Pedro gracias por brindarme su apoyo cada que lo necesite.

Y a todas las personas que formaron parte de mi vida universitaria, la cual cada una dejo una parte de ellas en mí.

Cristina.

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN .....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN .....	4
Objetivo General:.....	4
Objetivos Específicos: .....	4
CAPÍTULO I.....	5
<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1. Los Alimentos .....</b>	<b>5</b>
<i>1.1.1. Contaminación de Alimentos .....</i>	<i>5</i>
<i>1.1.2. Tipos de alimentos en base a la seguridad alimentaria. ....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.2.1. Según el efecto prejudicial a la salud del consumidor.....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.2.2. Según las condiciones de conservación.....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.2.3. Según alteraciones que lo han inadecuado para su consumo.....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.3. Fuentes de contaminación de alimentos .....</i>	<i>7</i>
<i>1.1.3.1. Contaminación Biológica.....</i>	<i>8</i>
<i>1.1.3.2. Contaminación Química.....</i>	<i>9</i>
<i>1.1.3.3. Contaminación Física .....</i>	<i>10</i>
<i>1.1.3.4. Contaminación Cruzada.....</i>	<i>10</i>
<i>1.1.4. Efectos de alimentos contaminados en la salud.....</i>	<i>10</i>
<i>1.1.4.1. Clasificación de enfermedades alimentarias .....</i>	<i>11</i>

1.1.4.2.	<i>Síntomas de enfermedades transmitidas por alimentos</i> .....	13
1.1.4.3.	<i>Factores que favorecen el desarrollo de ETAs</i> .....	13
<b>1.2.</b>	<b>Microorganismos indicadores de calidad sanitaria</b> .....	<b>14</b>
1.2.1.	<i>Aerobios mesófilos totales</i> .....	14
1.2.2.	<i>Enterobacterias totales</i> .....	15
1.2.2.1.	<i>Coliformes fecales</i> .....	15
1.2.2.2.	<i>Escherichia coli</i> .....	15
1.2.2.3.	<i>Salmonella spp.</i> .....	16
1.2.2.4.	<i>Shigella</i> .....	17
1.2.3.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
<b>1.3.</b>	<b>Ventas Ambulantes</b> .....	<b>18</b>
1.3.1.	<i>Lugares de expendio de alimentos como potencial fuente de contaminación</i> .....	20
1.3.2.	<i>Ventas ambulantes de ceviches de chochos</i> .....	20
1.3.3.	<i>Composición de ceviche de chochos</i> .....	20
1.3.4.	<i>Ceviche de chochos como patrimonio</i> .....	20
<b>1.4.</b>	<b>Prácticas correctas de higiene</b> .....	<b>21</b>
1.4.1.	<i>Manipulación de alimentos</i> .....	21
1.4.1.1.	<i>Importancia de la manipulación de alimentos</i> .....	21
1.4.1.2.	<i>Factores que influyen en la manipulación de alimentos</i> .....	22
1.4.1.3.	<i>Capacitación del personal</i> .....	23
<b>CAPÍTULO II</b> .....		<b>25</b>
<b>2.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	<b>25</b>
2.1.	<b>Localización de estudio</b> .....	<b>25</b>
2.2.	<b>Factores de estudio</b> .....	<b>25</b>
2.2.1.	<i>Población de estudio</i> .....	25
2.2.2.	<i>Período de la investigación</i> .....	25
2.2.3.	<i>Tamaño de la muestra</i> .....	25

2.2.4.	<i>Técnicas de recolección de datos</i> .....	26
2.3.	<b>Materiales, Equipos y Reactivos</b> .....	26
2.3.1.	<i>Materiales</i> .....	26
2.3.2.	<i>Equipos</i> .....	27
2.3.3.	<i>Reactivos</i> .....	27
2.4.	<b>Metodología</b> .....	28
2.4.1.	<i>Preparación de agua de peptona</i> .....	28
2.4.2.	<i>Preparación de muestras</i> .....	29
2.4.3.	<i>Preparación de diluciones</i> .....	29
2.4.2.	<i>Recuento de Aerobios mesófilos</i> .....	30
2.4.3.	<i>Recuento de Staphylococcus aureus</i> .....	30
2.4.4.	<i>Recuento de Enterobacterias</i> .....	31
2.4.5.	<i>Activación de Salmonella</i> .....	32
2.4.6.	<i>Determinación de Salmonella en agar SS</i> .....	33
2.4.7.	<i>Aislamiento y purificación de Salmonellas</i> .....	34
2.4.8.	<i>Tinción Gram</i> .....	34
2.4.9.	<i>Identificación de Salmonellas mediante pruebas bioquímicas</i> .....	34
2.4.9.1.	<i>Kliger Hierro Agar</i> .....	34
2.4.9.2.	<i>Agar SIM</i> .....	35
2.4.9.3.	<i>Urea</i> .....	36
2.4.9.4.	<i>Simmons Citrato</i> .....	36
<b>CAPÍTULO III</b> .....		<b>37</b>
3.	<b>MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>37</b>
3.1.	<b>Resultados de lista de verificación aplicada a cada puesto de expendio</b> .....	<b>37</b>
3.2.	<b>Análisis Microbiológico</b> .....	<b>41</b>
3.2.1.	<i>Recuento de Enterobacterias, E. coli, S. aureus y Aerobios mesófilos</i> .....	<b>41</b>
3.2.2.	<i>Cualificación e Identificación de Salmonella spp</i> .....	<b>44</b>

<b>3.3. Relación de condiciones de expendio y análisis microbiológico .....</b>	<b>46</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>50</b>
<b>GLOSARIO</b>	
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b> Principales enfermedades de origen alimentario .....	11
<b>Tabla 1-3:</b> Evaluación sanitaria de puestos de ceviches de chochos.....	37
<b>Tabla 2-3:</b> Recuento de microorganismos de puestos de venta analizados.....	41
<b>Tabla 3-3:</b> Resultados de presencia o ausencia de <i>Salmonella spp.</i> en agar SS .....	44
<b>Tabla 4-3:</b> Identificación bioquímica de colonias seleccionadas de <i>Salmonella spp.</i> .....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b> Agentes causantes de contaminación de alimentos.....	8
<b>Figura 2-1:</b> <i>Salmonella</i> Entérica y subespecies .....	17
<b>Figura 3-1:</b> Especies del género <i>Shigella</i> .....	17

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-2:</b> Metodología para análisis microbiológico de ceviche de chochos .....	28
<b>Gráfico 1-3:</b> Correlación % de cumplimiento PCH y recuento microbiológico de enterobacterias. ....	46
<b>Gráfico 2-3:</b> Correlación % de cumplimiento PCH y recuento microbiológico de <i>E. coli</i> ....	47
<b>Gráfico 3-3:</b> Correlación % de cumplimiento PCH y recuento microbiológico de <i>S. auerus</i> .....	47
<b>Gráfico 4-3:</b> Correlación % de cumplimiento PCH y recuento microbiológico de Aerobios Mesófilos. ....	47

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

**ANEXO A:** Lista de verificación sanitaria para puestos de venta ambulatoria

**ANEXO B:** Procesamiento de muestras

**ANEXO C:** Siembra de microorganismos

**ANEXO D:** Lectura de resultados

**ANEXO E:** Cálculos empleados para el recuento de microorganismos

**ANEXO F:** Instructivo para manipuladores

**ANEXO G:** Autorización del proyecto de investigación.

## **ABREVIATURAS**

**°C**.....Grado Celsius

**EMB**.....Eosin methylene blue

**ETA's**.....Enfermedades transmitidas por alimentos

**FAO**.....Food and Agriculture Organization

**ISO**.....International Organization for Standardization

**OMS** .....Organización Mundial de la Salud

**PCH**.....Prácticas correctas de higiene

**UFC/g**.....Unidades Formadoras de colonias por gramo

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la influencia de las condiciones de expendio de los ceviches de chochos comercializados en la parroquia Velasco-Riobamba, sobre su calidad microbiológica. Para esto se evaluó el cumplimiento de prácticas de higiene en el expendio de este producto en 5 puestos ambulantes; se realizó el análisis microbiológico de muestras de: ceviche completo, jugo, chocho, cuero y encurtido (cebollas-tomate), obtenidos de cada puesto por duplicado. Se efectuó un conteo de colonias de Enterobacterias, *E. coli*, *S. aureus* y Aerobios Mesófilos por el método de siembra de extensión en superficie, para *Salmonella spp*, se sembró, aisló e identificó, finalmente se realizó una correlación de la lista de verificación con el análisis microbiológico y se elaboró un instructivo para preparación y venta de ceviches de chochos en puestos ambulatorios. De la aplicación de la lista solamente P2 alcanza 83,9%, los demás poseen un menor cumplimiento. Las muestras obtenidas de P1 presentaron mayor carga microbiana, sobrepasando el valor aceptable, mientras que las muestras de P2 tienen menor carga microbiana, considerando los ingredientes, mayor carga microbiana tienen el cuero y chocho. En cuanto a identificación de *Salmonella spp*, se tomaron colonias con características fenotípicas de este microorganismo, de 5 muestras aisladas P4 en chocho presenta positivo para *Salmonella spp*, y jugo (*Proteus vulgaris*), para P1 se aislaron tres diferentes colonias de Chocho obteniendo en A (*Citrobacter freundii*), B (*Escherichia coli*) y C (*Shigella dysenteriae*). La correlación de resultados obteniendo  $R^2$  reflejo para Aerobios mesófilos (0,7638), *S. aureus* (0,4045), Enterobacterias (0,3002) y *E. coli* (0,0941), donde si el valor se acerca a uno existe mayor relación. Se concluye que ninguna muestra estudiada es apta para el consumo humano con recuentos altos en microorganismos según la normativa utilizada. Se recomienda aplicar normas sobre la correcta manipulación de alimentos y condiciones higiénicas.

**PALABRAS CLAVE:** <MICROBIOLOGÍA>, <ALIMENTOS>, <ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO>, <MANIPULACIÓN DE ALIMENTOS> <NORMAS HIGIÉNICAS>, <MICROORGANISMOS>.



Firmado electrónicamente por:  
**LUIS ALBERTO  
CAMINOS  
VARGAS**



0734-DBRAI-UPT-2021

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the influence of the sale conditions of the lupine ceviches marketed in the Velasco-Riobamba parish on its microbiological quality. For this, compliance with hygiene practices in the sale of this product in 5 mobile stalls was evaluated; The microbiological analysis of samples of: complete ceviche, juice, lupine, pork skin and pickles (onions-tomato) was carried out, obtained from each stand in duplicate. A colonies count of Enterobacteria, *E. coli*, *S. aureus* and Mesophilic Aerobes was carried out by the surface extension seeding method, for *Salmonella spp*, it was seeded, isolated and identified, finally a correlation of the checklist was made with the microbiological analysis and an instruction manual was elaborated for the preparation and sale of lupine ceviches in mobile stalls. Of the application of the list, only P2 reaches 83.9%, the others have lower compliance. The samples obtained from P1 presented a higher microbial load, exceeding the acceptable value, while the P2 samples have a lower microbial load, considering the ingredients, the pork skin and lupine have a higher microbial load. Regarding the identification of *Salmonella spp*, colonies with phenotypic characteristics of this microorganism were taken, from 5 isolated samples P4 in lupine is positive for *Salmonella spp*, and juice (*Proteus vulgaris*), for P1 three different colonies of lupine were isolated, obtaining in A (*Citrobacter freundii*), B (*Escherichia coli*) and C (*Shigella dysenteriae*). The correlation of results obtaining R2 showed for mesophilic aerobes (0.7638), *S. aureus* (0.4045), Enterobacteria (0.3002) and *E. coli* (0.0941), where if the value is close to one there is a great relationship. It is concluded that no sample studied is suitable for human consumption with high counts in microorganisms according to the regulations used. It is recommended to apply rules on the correct handling of food and hygienic conditions.

**KEYWORDS:** <MICROBIOLOGY>, <FOODS>, <MICROBIOLOGICAL ANALYSIS>, <FOOD HANDLING> <HYGIENIC STANDARDS>, <MICROORGANISMS>.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) son un problema global que se presentan frecuentemente en la vida cotidiana de la población en general y por lo tanto es considerado un grave problema de salud pública, pudiendo ocasionar pérdidas tanto en la producción como en la vida social de la población (Martínez y Vera, 1999, p.86), los peligros causantes de ETAs pueden tener un origen en cualquiera de las etapas de la preparación de los mismos, siendo mayor el potencial de estas al consumir productos que se expenden en la calle, debido a las condiciones ambientales inadecuadas a las que se encuentran sometidos estos productos (Bayona, 2012, p.268).

La OMS en el año 2010 establece “Reglas de Oro”, las cuales detallan 10 normas para asegurar la inocuidad de los alimentos ofreciendo un asesoramiento que reduzca el riesgo de que los patógenos que influyen sobre alimentos tengan la capacidad de contaminar, sobrevivir o multiplicarse (OMS, 2010, p.22).

En el año 2016, la agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro, presenta un reporte donde menciona que a nivel mundial más del 30% de la población por año presentan ETA's y por contaminación biológica cerca del 70% de casos de diarrea son causados por alimentos, a nivel de Ecuador Agrocalidad menciona que por cáncer gastrointestinal mueren 4 personas por día y por enfermedades diarreicas se invierten 82 millones de dólares al año, es por eso que en el reporte mencionado Agrocalidad hacen énfasis sobre cómo es prioridad en la salud del consumidor la inocuidad de los alimentos (AGROCALIDAD, 2016, pp.9-11).

Según el Ministerio de Salud Pública en el año 2013 se reportaron 21.000 casos de enfermedades generadas por la inadecuada manipulación y mal tratamiento de alimentos para el consumo humano, el 24 de enero del año 2019, en el Centro Comercial “La Condamine” de la ciudad de Riobamba se realizó el lanzamiento de la Campaña Nacional de Capacitación en Manipulación de Alimentos, el cual involucra a todos los actores que se dedican al expendio y tratamiento de alimentos, con el fin de que la ciudadanía tenga un acceso seguro y permanente de comida sana y nutritiva (Ministerio de Salud Pública, 2019, p.1).

En general, el conocimiento sobre el comercio callejero es muy escaso, donde la información sobre la calidad sanitaria de estos productos no es exacta ni brinda datos que permitan orientar sobre su consumo (Vásquez, 2015, p.12).

En los últimos 15 años varias instituciones como la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) lleva a cabo estudios que permiten determinar la magnitud

del problema de la venta callejera de alimentos, que al trabajar en conjunto con la OMS reúnen información y realizan investigaciones sobre estos alimentos con el único fin de ayudar a los gobiernos a disminuir problemas ocasionados por ETAs, por medio de programas que permitan mejorar la calidad (Martinez y Vera, 1999, p.87).

Los ceviches de chochos comercializados en la ciudad de Riobamba son considerados un plato tradicional y uno de los más vendidos, que consiste en la maceración de varios ingredientes que incluye como base el chocho y jugo puro de tomate riñón, tostado, cebollas, hierbitas, cuero u oreja de cerdo y otros ingredientes escogidos a gusto de los comensales (GoRaymi, 2015, p.1).

Los estudios sobre la calidad higiénica y sanitaria en alimentos expendidos en la calle tienen relevancia en Latinoamérica, estos mencionan como la seguridad alimentaria y nutricional son parte de un derecho humano básico, un estudio realizado en el distrito de Florencia de Mora en el año 2014, donde se analizaron puestos de venta de ceviche y papa a la huancaína expendidos en la vía pública, evaluaron 48 muestras según los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para alimentos de este país, determinando así que el 87,5% de los puestos estudiados no son aptos para el consumo humano y que microorganismos como los *Aerobios mesófilos*, coliformes totales y *E.coli* tienen una mayor prevalencia en este tipo de alimentos (Vásquez, 2015). Así mismo en Bogotá en el año 2015 se estudia alimentos expendidos en la vía pública donde en todos los puestos existe una deficiencia de buenas prácticas de manufactura sobre los manipuladores y presencia de microorganismos contaminantes, en este estudio se analizó hamburguesas, pizza, fritanga, arepa, postres ensaladas de frutas y jugos de naranja (Campuzano F et al., 2015, pp.85-89).

En Piñas, Ecuador analizó un brote de intoxicación alimentaria en el distrito 07D04 Balsas, Marcabelí en el año 2015, se recolectó información por medio del sistema de vigilancia de ETAs del Ministerio de Salud Pública, teniendo un total de 25 infectados con respecto a 36 personas expuestas, el modo de transmisión fue una fuente directa puntual y el agente causal fue *S.aureus*, por el consumo principal de queso (Tapia, 2018, pp.35-39).

En vista de la problemática antes descrita se plantea el trabajo de titulación “INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE EXPENDIO DE LOS CEVICHES DE CHOCHOS COMERCIALIZADOS EN LA PARROQUIA VELASCO-RIOBAMBA SOBRE SU CALIDAD MICROBIOLÓGICA” cuyo objetivo principal es evaluar como las condiciones de expendio actúan sobre la cantidad de microorganismos indicadores y patógenos productores de ETAs, esto se realiza por medio de una lista de verificación en cuanto a las condiciones higiénicas de los puestos de estudio, conteo de microorganismos indicadores y patógenos, relacionando estos resultados con los obtenidos en las condiciones de expendio y finalmente con la elaboración de

un instructivo que sirva capacitación al personal en base a la adecuada manipulación de alimentos y correctas prácticas de higiene.

La presente investigación forma parte del proyecto, “EVALUAR LA CALIDAD FÍSICO - QUÍMICA, BACTERIANA Y PARASITARIA EN LOS CEVICHES DE CHOCHOS (Producto Artesanal de Consumo Masivo, Patrimonio culinario), QUE SE PREPARAN Y SE EXPENDEN EN LA CIUDAD DE RIOBAMBA CONTRIBUYENDO A LA SEGURIDAD ALIMENTARIA” financiado por el grupo de investigación “LESHPAREC” de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

## **OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **Objetivo General:**

- Evaluar la influencia de las condiciones de expendio de los ceviches de chochos comercializados en la parroquia Velasco-Riobamba. sobre su calidad microbiológica.

### **Objetivos Específicos:**

- Determinar las condiciones de expendio de los lugares de comercialización de ceviches de chocos a través de una lista de verificación de condiciones higiénicas para el análisis de su influencia en la calidad microbiológica.
- Determinar cuantitativamente los microorganismos indicadores sobre la calidad higiénica y la presencia o ausencia patógenos causantes de ETAs por medio de un análisis microbiológico sobre los ceviches de chochos para la evaluación de riesgos microbiológicos y de contaminación en base al cumplimiento de la normativa al respecto.
- Relacionar los resultados de las condiciones de expendio con los resultados del análisis microbiológico mediante la obtención de R2 en una ecuación de relación.
- Elaborar un instructivo sobre la correcta manipulación de alimentos y condiciones higiénicas adecuadas que sirva como material de capacitación de los conocimientos, habilidades y conductas del personal.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1. Los Alimentos

Desde hace varios años el Código Alimentario Español ha sido la base para definir lo que significa este concepto, donde se menciona que un alimento es cualquier sustancia o producto destinado a ser ingerido por seres humanos, ya sea que han sido procesados de forma entera o parcial, o a su vez no procesados (CTIC, 2015, p.7).

Según la FAO define como alimento a cualquier producto natural o elaborado susceptible de ser ingerido y digerido, donde sus características lo hacen agradable y apto para su consumo, estando este constituido por una mezcla de nutrientes que llegan a cumplir determinadas funciones en el organismo (Ramírez y Palacios, 1981, p.125).

##### *1.1.1. Contaminación de Alimentos*

La contaminación alimentaria como tal es aquella presencia de cualquier material anormal presente en un alimento, el cual va a comprometer la calidad del mismo poniendo un riesgo en el consumo humano, ya que los consumidores exigen alimentos con una alta calidad que se mantenga al momento de la adquisición y consumo de los alimentos (Orellana, 2015, p.39).

La contaminación hacia los alimentos se da cuando directamente una persona o sustancias de una naturaleza diferente a la del alimento reciben en forma directa o indirecta cantidad de microorganismos con la capacidad de afectar la salud del consumidor, pudiendo verse contaminado al igual por otros factores (Orellana, 2015, p.40).

### ***1.1.2. Tipos de alimentos en base a la seguridad alimentaria.***

#### *1.1.2.1. Según el efecto perjudicial a la salud del consumidor*

Nocivos: Se mencionan como alimentos nocivos a todos aquellos alimentos que al ser consumidos pueden llegar a provocar ya sea de forma aguda o crónica efectos que serán perjudiciales para el consumidor (CTIC, 2015, p.8).

Inocuos: Se refieren a alimentos inocuos a aquellos que cumplen con un conjunto de condiciones en cuanto a su aspecto y proceso permitiendo asegurar la ausencia de factores con la capacidad de efectos perjudiciales para el consumidor (CTIC, 2015, p.8).

#### *1.1.2.2. Según las condiciones de conservación*

Perecederos: Se refieren a aquellos alimentos que en base a sus características requieren condiciones especiales en cuanto a su conservación hacia los periodos de almacenamiento y transporte. Estos tienen la capacidad de alterarse con rapidez, requiriendo así que sean consumidos en un corto plazo de tiempo, entre ellos se presentan sin procesar como los huevos, carne, pescado y la leche (CTIC, 2015, p.8)

Semi-perecederos: Estos alimentos hacen referencia a aquellos que han sido conservados o procesados por medio de diferentes técnicas dándole así la característica que tenga una duración más prolongada, siempre y cuando se encuentre en las condiciones adecuadas, dentro de algunos métodos utilizados para mejorar la conservación esta la congelación, la deshidratación, el salazón, el ahumado y finalmente el enlatado de estos (CTIC, 2015, p.9)

#### *1.1.2.3. Según alteraciones que lo han inadecuado para su consumo*

La alteración de los alimentos es atribuida a varios factores, ya sean ambientales físicos en los que se incluye la temperatura, la luz o el aire, modificando así varias características de los alimentos. Existen otras posibilidades de alteración que bajo específicas condiciones, por sus propios componentes o por las circunstancias en cuanto a su entorno, pueden desencadenar reacciones químicas que producen la alteración del producto (Garcinuño Martínez, 2017, p.51).

Alterado: Alimentos alterados son aquellos que ya sea por causas naturales, biológicas, químicas físicas o por algún tratamiento inadecuado, han sufrido un deterioro hacia sus características organolépticas afectando su valor nutritivo, haciendo imposible para el consumo humano, siendo estas características fáciles de detectar ya que se lo puede observar en el color, olor, sabor y en el aspecto como tal. Las alteraciones más frecuentes en alimentos se pueden dar por factores como (Garcinuño Martínez, 2017, pp.51-52):

- Frío: Este puede ocasionar la solidificación de algunos alimentos, como el aceite y la miel.
- Viento: Este puede ocasionar la desecación de alimentos
- Calor: Este puede provocar la pérdida de vitaminas.
- Formación de gases: Pudiendo provocar abombamiento en latas usadas conserva o envases.
- Oxidación de las grasas: Esta puede provocar enranciamiento de varios productos.
- Tiempo: Este es un factor determinante ya que puede provocar al ablandamiento o putrefacción de los alimentos.

Deteriorado: Se refiere a aquellos alimentos al cual se produjo un envejecimiento, cambio de color, rotura o abolladuras, se encontraban en envases mal cerrados o a su vez injurias externas al envoltorio de un alimento envasado, donde cualquier de estos factores pueden producir una posterior contaminación (Garcinuño Martínez, 2017, pp.51-52).

Contaminado: Son aquellos alimentos que contienen microorganismos patógenos, sustancias químicas o radiactivas, parásitos, toxinas o cualquier cuerpo extraño a la composición propia del alimento, dando así un paso a producir enfermedades en el humano o en animales, se puede también hacer referencia si los alimentos contienen componentes naturales que en altas concentraciones mayores a las permitidas pueden causar daño (Garcinuño Martínez, 2017, pp.51-52).

Un alimento puede estar:

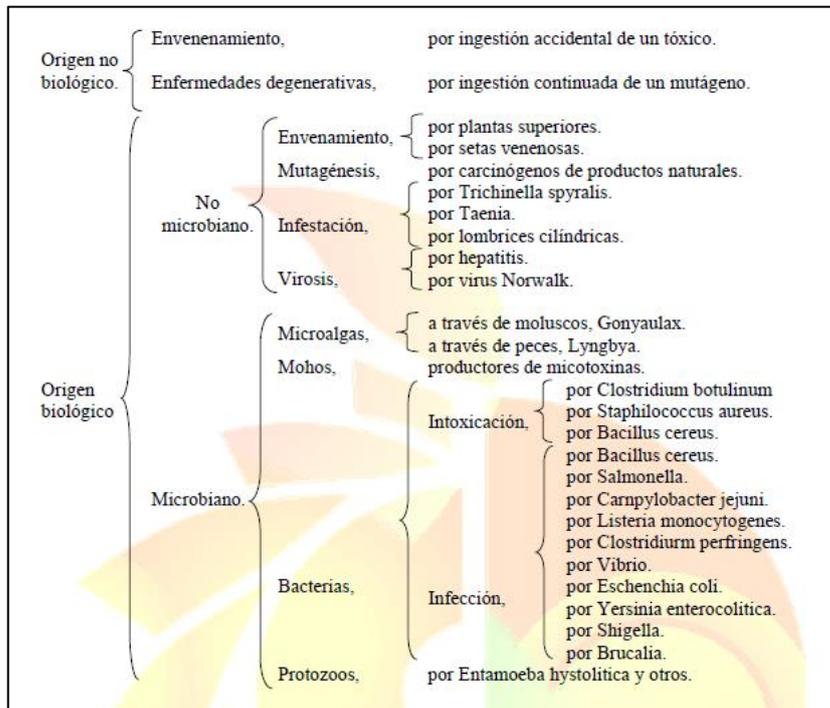
- Deteriorado-Contaminado (se aprecia)
- Deteriorado-No Contaminado (se aprecia)
- Contaminado-No Deteriorado (no se aprecia)

Connumere el ultimo mencionado se considera que tiene un alto riesgo y es el principal causante de enfermedades que poseen un origen alimentario.

### ***1.1.3. Fuentes de contaminación de alimentos***

Contaminante es cualquier sustancia, microorganismo indeseable que se encuentre en cualquier alimento al momento de su consumo, que puede provenir de las operaciones efectuadas en el

cultivo, cría de los animales, tratamientos utilizados en medicina veterinaria, se puede dar igual como resultado de un contaminante ambiental, o por los equipos con las que se da la preparación y conservación. (Chavez Lucio, 2010, p.15).



**Figura 1-1:** Agentes causantes de contaminación de alimentos

**Fuente:** (León y Juidías, 2004)

### 1.1.3.1. Contaminación Biológica

Este tipo de contaminación hace referencia a la presencia de microorganismos como bacterias, virus, hongos y parásitos, donde la contaminación por causa de bacterias es la más común en cuanto a intoxicaciones alimentarias, estando muy vinculada en cuanto a la manipulación incorrecta de alimentos.

La contaminación biológica puede provenir tanto de seres microscópicos y no microscópicos, evidenciándose riesgos biológicos con ciertas peculiaridades como lo es que una vez el alimento contaminado por un microorganismo tiene la capacidad de crecer en el tomándolo como huésped y pueden constituir una fuente de contaminación peligrosa para la salud del consumidor al tratarse de microorganismo patógenos, los cuales principalmente no alteraran al alimento de una forma visible. (ELIKA, 2017, pp.1-3).

- Principales microorganismos contaminantes de alimentos

Las bacterias conocidas como seres unicelulares que poseen un tamaño variable y poseen una estructura menos compleja a de los organismos superiores, son ubicuas y presentan un papel fundamental tanto en la naturaleza y el hombre, puesto que la presencia de una flora bacteriana es normal sin embargo existen varias bacterias que llegan a ser patógenas, causantes de varias enfermedades humanas, destacando de forma evidente las intoxicaciones alimentarias, provocada por alimentos que llegan a ser contaminados por diversos factores (ELIKA, 2017, p.2).

En la actualidad se han descrito más de 250 tipos de ETAs producidas por bacterias, virus y parásitos, sin embargo, los más reportados son de origen bacteriano entre ellos los principales están *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens*, al igual *Escherichia coli O157:H7* donde a largo plazo estas enfermedades podrían causar complicaciones graves, así la *E. coli O157:H7* provoca síndrome hemolítico urémico y trombocitopenia; *Salmonella* artritis y septicemia; *L. monocytogenes* puede ocasionar meningitis y aborto en las mujeres embarazadas, entre otras complicaciones clínicas (Peña et al., 2013, p.75)

Los virus son entes microscópicos que solo tienen la capacidad de reproducción al encontrarse dentro de otras célula, teniendo una alta capacidad infectiva, aquellos virus que logran llegar a los alimentos son de origen fecal en su mayoría, siendo la fuente las aguas contaminadas, siendo un mayor problema en mariscos, pescados y vegetales, al igual se debe tomar en cuenta que el contacto con alimentos con una deficiente higiene puede provocar este tipo de contaminación (ELIKA, 2017, p.3).

Los hongos son microorganismos que poseen una complejidad biológica superior a la que poseen las bacterias, en la naturaleza existen alrededor de 250.000 especies de hongos sin embargo solo 150 especies tienen la capacidad de producir patologías en el ser humano, aquellas enfermedades producidas por estos microorganismos son conocidas como micosis (ELIKA, 2017, p.3).

#### 1.1.3.2. Contaminación Química

Este tipo de contaminación se produce cuando un alimento es puesto en contacto de sustancias químicas, en cualquiera de los procesos a los que este sea sometido ya sea el de producción, elaboración industrial o casera, el almacenamiento, envasado e incluso el transporte final, dentro de las sustancias que se pueden ver involucradas dentro de este tipo de contaminación están los plaguicidas, residuos de medicación utilizada en el área veterinaria, un exceso de aditivos, diferentes productos de limpieza, materiales inadecuados para realizar el envasado, diferentes

materiales que se utilizan ya sea para el equipamiento y utensilios de preparación (Prescal, 2015, p.25)

#### *1.1.3.3. Contaminación Física*

Este tipo de contaminación se basa en la presencia de cuerpos extraños sobre un alimento que pueden llegar a ser mezclados accidentalmente al momento que un alimento es preparado ya sean materiales como vidrio, metales, fibras, pelos, polvo, entre otros. Este comúnmente se presenta cuando el personal de limpieza trabaja sobre áreas correspondientes a la preparación de alimentos, al igual este se presenta cuando el manipulador presenta una indumentaria inadecuada (Prescal, 2015, p.26)

#### *1.1.3.4. Contaminación Cruzada*

Esta contaminación se produce cuando microorganismos de característica nociva son transferidos ya sea por manos, equipos, utensilios y otros alimentos crudos a otros alimentos sanos y que están listos para el consumo, dentro de este se puede presentar:

- Contaminación cruzada directa: Esta ocurre cuando un alimento que se encuentra contaminado entra en contacto con uno que no lo está, la causa principal de este se da cuando se hay una mezcla de alimentos cocidos con crudos que no necesitan una cocción posterior como lo son las ensaladas, esta contaminación no solo puede ser producida por quien manipula los alimentos sino también por factores externos ambientales a estos alimentos (Chavez Lucio, 2010, p.15).
- Contaminación cruzada indirecta: Esta contaminación es producida por la trasferencia de distintos contaminantes de un alimento a otro por medio de manos, equipos, utensilios, entre otros (Chavez Lucio, 2010, p.16)

#### *1.1.4. Efectos de alimentos contaminados en la salud*

El efecto principal del consumo de alimentos contaminados sobre la salud humana, son las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs) los cuales se mencionan que son el resultado de una contaminación alimentaria por la presencia de algún material de origen extraño o anormal en el alimento comprometiendo así su calidad y poniéndolo en riesgo para su consumo humano.

Al igual se menciona que estas ETAs se producen por la ingesta de alimentos contaminados por medio de alguna de las fuentes mencionadas anteriormente (Tenemaza, 2014, p.44).

La aparición de un ETAs comúnmente es atribuible a un fallo doble en cuanto a la preparación de un alimento, primero se le atribuye cuando la contaminante toma contacto con el producto, y segundo por brindar condiciones adecuadas para el desarrollo del contaminante como lo es temperatura, actividad de agua, humedad, entre otros.

#### 1.1.4.1. Clasificación de enfermedades alimentarias

- Infecciones alimentarias: Este tipo de ETAs se producen por la ingesta de alimentos o aguas que se encuentran contaminadas por agentes patógenos que en la luz intestinal tienen la alta capacidad de multiplicarse y producir toxinas, o a su vez invadir la pared intestinal pudiendo atacar hacia otros aparatos y sistemas, se pueden tener infecciones invasivas las cuales con aquellas en las que el microorganismo coloniza tejidos y órganos dentro del hospedador, este comprende virus, protozoos bacterias y parásitos como son: *Salmonella*, *Shigella*, *Yersenia* y *E.coli*; y toxoinfecciones las cuales se producen por bacterias no invasivas pero capaces de colonizar y multiplicarse en el hospedero como lo es el *Vibrio cholerae* (Rodríguez Torrens et al., 2015, pp. 4).
- Intoxicaciones alimentarias: Este tipo de enfermedades se caracterizan por ocurrir entre 1-36 horas después de la ingesta de alimentos contaminados, es decir cuando los microorganismos se encuentran presentes en el alimento que se consume, estos síntomas llegan a durar entre un día a una semana, produciendo altas alteraciones gastrointestinales, las intoxicaciones se dan por la producción de toxinas de bacterias que se han multiplicado hasta una cierta concentración por un mecanismo llamado *quorum sensing*, dentro de los microorganismos más comunes que producen intoxicaciones están *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus* (Rodríguez Torrens et al., 2015, pp. 4)

**Tabla 1-1:** Principales enfermedades de origen alimentario

Nombre de la enfermedad	Origen de la enfermedad	Incubación	Síntomas	Prevención
Salmonelosis. ( <i>Salmenella</i> )	Bacterias en carnes crudas lácteos, huevos, aves mal cocidas, camarones, almejas, y aguas contaminadas	Inicia de 6-12 horas después de la ingesta	Dolor abdominal, diarrea, náuseas, vómitos, debilidad y escalofríos Duran 1 día y son moderados	Cocción, limpieza y refrigeración adecuada de alimentos y a su vez manos y utensilios limpios.

<i>Escherichia coli</i>	Se transmite por medio de contaminación fecal, a través de leche cruda, carne molida de res cruda, frutas y verduras crudas.	Inicia de 2-5 días después de haber comido el alimento.	Diarrea simple o acompañada de sangre, dolor abdominal, náuseas, vómitos, y malestar.	Lavado de manos después de ir al sanitario y durante la preparación de alimentos. Lavado de frutas y vegetales. Cocción completa los alimentos
<i>Campylobacter</i>	Leche cruda, agua contaminada, carnes, aves o mariscos crudos	Inicia de 2 -5 días de después de comer.	Fiebre, dolor de cabeza, muscular seguido de diarrea (a veces con sangre), dolor abdominal y náusea.	Cocción completa de los alimentos. Lavado de manos después de usar el sanitario. Limpiar y desinfectar superficies de cocina
Disenteria Bacilar o Shigelosis. ( <i>Shigella</i> )	Alimentos húmedos: ensaladas, lácteos, aves y agua contaminados	Inicia de 1-7 días después de ingerida	Diarrea, fiebre, vómito, dolor abdominal y espasmos abdominales	Hervir agua, lavar y desinfectar frutas y verduras, cocer t refrigerar alimentos adecuadamente y lavarse las manos reiteradamente.
Listeriosis ( <i>Listeria monocytogenes</i> )	Quesos, leche no pasteurizada y alimentos de mar.	Inicia de 7-30 días después de comer.	Fiebre, dolor de cabeza, náuseas y vómitos.	Cocción y refrigeración adecuada.  Respetar fechas de vencimiento en envases
Enterotoxina de Staphylococos	La toxina es producida cuando los alimentos contaminados con la bacteria son dejados demasiado tiempo a temperatura ambiente.	Inicia entre 30 minutos y 8 horas después de comer.	Diarrea, vómito, náusea, espasmos, dolores abdominales y cansancio.	No dejar los alimentos a temperatura ambiente.
<i>Clostridium perfringens</i>	Carnes y sus derivados	Inicia de 8-12 horas después de comer	Dolor abdominal y diarrea, algunas veces con vomito	Mantener alimentos a temperatura correcta. No dejar comida cocida en la olla de un día al otro.
<i>Vibrio Cholerae</i>	Agua contaminada, mariscos, moscas y manos sucias	Inicia hasta 5 días después de consumir el alimento contaminado	Diarrea abundante, vómito y deshidratación	Hervir agua, lavar y desinfectar frutas y verduras, freír y cocer los alimentos. Lavarse las manos reiteradamente.

<i>Clostridium botulinum</i>	Alimentos enlatados, carnes preparadas, jamón, salchichas, langosta y pescado	Inicia de 4-36 horas después de ingerir la comida.	Dificultad para deglutir, mareos, visión doble, dificultad para hablar y parálisis progresiva del sistema respiratorio.	No comprar alimentos enlatados que se encuentren oxidados o perforados. Cocinar los alimentos a temperaturas altas.
Virus de la Hepatitis A	Frutas, jugos, leche y derivados, verduras, el agua, mariscos y ensaladas son las más frecuentes	Inicio: de 15 a 50 días	Decaimiento, pérdida de apetito, náuseas, fiebre.  Los casos severos pueden causar daño del hígado.	Agua hervida para la cocción.  Lavado de mano Mariscos bien cocinados

Fuente: (Tenemaza, 2014)

Realizado por: Calderón, C. 2020

#### 1.1.4.2. Síntomas de enfermedades transmitidas por alimentos

Al ingresar los patógenos dentro del organismo, estos tienen la capacidad de reproducirse, por lo que tienen que superar aquellos mecanismos de defensa del hospedador, donde al conseguirlo la enfermedad se va a desarrollar, empezando así el periodo de incubación que empieza desde que el microorganismo penetra en el organismo hasta la aparición de los síntomas. Las ETAs poseen un corto periodo de incubación, las intoxicaciones comúnmente se manifiestan entre las 2-4 horas y las infecciones a las 24 horas, tiempo en el cual los microorganismos empiezan a multiplicarse en el intestino (Tenemaza, 2014, p.43)

Las ETAs pueden afectar a un individuo o a su vez a un grupo de individuos, estas se manifiestan por medio de varios síntomas importantes de estas entre las más comunes se encuentran los vómitos, dolores abdominales, diarrea y fiebre, en algunos tipos de enfermedades se puede observar síntomas de carácter neurológico entre los que se encuentran ojos hinchados, problemas renales y una visión doble. Estos síntomas presentados variaran de la cantidad de microorganismos o toxinas que estos han producido en el alimento, la cantidad del alimento que se ha consumido, el estado actual de salud de la persona, entre otros (Tenemaza, 2014, p.43).

#### 1.1.4.3. Factores que favorecen el desarrollo de ETAs

- Higiene inadecuada por parte de los manipuladores durante diferentes procesos desde la recepción de la materia prima hasta su consumo.
- Temperaturas incorrectas de cocción y almacenamiento incorrecto.
- Equipos contaminados

- Refrigeración deficiente
- Interrupción en la cadena de frío
- Mal tratamiento de las materias primas
- Elaboración de alimentos con gran antelación a su consumo
- Cocción deficiente
- Alimentos provenientes de proveedores poco confiables

## **1.2. Microorganismos indicadores de calidad sanitaria**

La calidad microbiológica en alimentos es de vital importancia ya que los microorganismos presentes son los causantes de ETA's, así la detección de microorganismos patógenos es muy complicada, costosa o lenta en cuanto a laboratorio, por esto es que se establecen en términos de calidad microbiológica microorganismos indicadores, estos son organismos o como tal un grupo que ponen en advertencia un manejo inadecuado o contaminación de alimentos los cuales pueden incrementar el riesgo de la presencia de microorganismos patógenos, al igual la detección de estos en el laboratorio es más sencilla, rápida y económica, siendo así la principal ventaja de su detección la prevención de riesgos (UNAM, 2015, p.15)

### ***1.2.1. Aerobios mesófilos totales***

Son consideradas todas aquellas bacterias dependientes de oxígeno, a fines a temperaturas entre 30°C-37°C y capaces de desarrollarse en cualquier medio de agar nutritivo, este tipo de microorganismos no siempre llegan a ser patógenos ya que este reconoce la cantidad total de microbios presentes en el alimento, por eso es utilizado como indicador de las características higiénicas de un alimento, así cuanto mayor sea la presencia de microorganismos aerobios totales se verá perjudicada la calidad del alimento (González, 2018, p.2).

La determinación de estos microorganismos indican el grado de contaminación de una muestra y las condiciones que han provocado esta contaminación, sin aplicar a alimentos fermentados, este grupo de microorganismos es importante en alimentos frescos, refrigerados, congelados, laceros y en aquellos listos para su consumo (UNAM, 2015, p.16).

### 1.2.2. *Enterobacterias totales*

Estos microorganismos pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* el cual incluye bacterias coliformes fermentadoras de lactosa, diferentes cepas de *E. coli* no fermentadoras de lactosa y especies no fermentadoras de lactosa como lo son *Salmonella* y *Shigella*. Todo el grupo de estos microorganismos son considerados indicadores ya que estas bacterias las cuales son en su mayoría de origen fecal llegan a ser destruidas en tratamientos de pasteurización, indicando así un número considerable una mala higiene de los alimentos (González, 2018, p.3), el término coliformes comprende a *Escherichia coli* y diferentes especies que pertenecen a otros géneros de esta familia fermentadoras de lactosa con gas a 31-37°C pudiendo ser fecales o no serlo.

Su detección se basa en capacidad que poseen para fermentar lactosa, pudiendo utilizar métodos del número más probable (NMP), el cual es un método estadístico que incluye tres etapas permitiendo el conteo de cantidades muy bajas de coliformes. También son detectables por medio de cuenta en placa con ayuda del agar nutritivo bilis rojo violeta (ABRV), el cual las colonias fermentadoras de lactosa provocan el vire de indicador, otro método efectivo es por filtración de membrana e incubación en medios adecuados, o métodos rápidos como *Petrifilm* y otras reacciones cromogénicas o fluorogénicas (UNAM, 2015, pp.16-17).

#### 1.2.2.1. *Coliformes fecales*

Este grupo de bacterias pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, se diferencian porque son capaces de fermentar lactosa con producción de gas a 44°C en 24 horas. La mayoría de las veces el género predominante en contaminaciones por coliformes fecales es *Escherichia*, sin embargo, están otros géneros de coliformes termotolerantes como *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Enterobacte*. *Escherichia coli* se puede distinguir de los demás coliformes termotolerantes por la capacidad de producir indol a través de triptófano (González, 2018, p.3).

Este tipo de microorganismos se eliminan fácilmente por tratamiento térmico y son muy útiles como criterio microbiológico para determinar una contaminación en postproceso térmico.

#### 1.2.2.2. *Escherichia coli*

Este microorganismo es considerado un indicador de contaminación reciente, ya sea humana o animal en productos como agua embotellada, leche, jugos y alimentos procesados en general, este

se caracteriza por ser un coliforme termotolerante con la capacidad de fermentar lactosa a 44,5°C productor de indol por triptófano como fue mencionado, y productor de  $\beta$ -glucuronidasa las cuales son características utilizadas para su detección en el laboratorio, generalmente para la etapa final de NMP u otros métodos como de *Petrifilm* (UNAM, 2015, p.17).

Debido a su alta presencia en el intestino, esta es utilizada como indicador principal para contaminación fecal, considerados comensales inofensivos las cepas de *E.coli* forman el 1% de microbiota normal del intestino, si bien la mayoría de cepas dentro del intestino son agentes patógenos gastrointestinales benéficos para el ser humano otros llegan a ser perjudiciales, donde estas se distinguen por su capacidad de provocar graves enfermedades por resultado de la información genética de producción de toxinas, capacidad de adhesión e invasión de células huéspedes y destrucción de tejidos (FAO, 2011, p.3).

Dos tipos de *E. coli* son las que comúnmente causan enfermedad diarreica según los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades CDC, que son la productora de la toxina de Shiga (STEC) la cual esta toxina es la causante de diarrea que puede venir acompañada con sangre, este tipo denominado comúnmente O157 y la *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) causante principal de la diarrea del viajero y una de las principales causas de diarrea a nivel mundial (CDC, 2020, p.1).

#### 1.2.2.3. *Salmonella spp.*

La Salmonelosis es considerada una enfermedad zoonótica infecciosa transmitida por medio de varios alimentos y muy asociada a carnes y subproductos de aves de corral, incluyendo a los huevos, su prevención viene asociada a las correctas prácticas de manipulación de alimentos, su refrigeración y una cocción adecuada.

Las especies de *Salmonella spp.* son los miembros con mayor complejidad de la familia *Enterobacteriaceae* con alrededor de 2.400 serotipos descritos, actualmente el género se clasifica en dos especies *S. enterica* y *S.bongori*, este género siendo patógeno para humanos y animales se transmite por vía oral y es causante de enteritis, fiebre entérica, infección sistémica y es asociado con la ingesta de alimentos preparados incorrectamente y que siguen una mala manipulación (Bayona, 2012, p.268).

Estos son anaerobios facultativos y no esporulados, no fermentadores de lactosa (excepto por de *Salmonella enterica subesp. arizonae* y *Salmonella enterica subesp. diarizonae*), fermentadores de glucosa con producción de gas (excepto *Salmonella Typhi*), no tienen capacidad de producir indol y no degradan urea (ANMAT, 2017, p.1).

La nomenclatura para esta especie es muy compleja es por eso por lo que la mayoría opta por seguir la propuesta de Kaufmann, la cual la dice en los géneros mencionados anteriormente *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*, las cuales a su vez se dividen en más serovariedades donde las más frecuentes son *Salmonella Typhimurium* y *Salmonella Enteritidis*.



**Figura 2-1:** *Salmonella* Entérica y subespecies

Fuente: (ANMAT, 2017)

#### 1.2.2.4. *Shigella*

La Shigelosis también es conocida como disentería bacilar, causada por el género *Shigella*, la cual posee cuatro subgrupos con diferente capacidad patogénica, esta es una bacteria altamente entero invasiva su hábitat es el colon y su reservorio principal el humano, su transmisión es directa o indirecta del agua y alimentos contaminados con materia fecal de personas infectadas, el género está formado por bacilos gram negativos inmóviles, anaerobios facultativos no esporulados, presentan una actividad bioquímica reducida con fermentación de glucosa sin producción de gas. Este género se divide en cuatro subgrupos y 43 serotipos los cuales se diferencian por su actividad bioquímica (ANMAT, 2017b, p.1)

Subgrupo	Especie	Número de serotipos	Fermentación del D-manitol
A	<i>dysenteriae</i>	15	-
B	<i>flexneri</i>	8	+
C	<i>boydii</i>	19	+
D	<i>sonnei</i>	1	+

**Figura 3-1:** Especies del género *Shigella*

Fuente: (ANMAT, 2017b)

En general los medios de cultivo utilizados para el aislamiento de enterobacterias enteropatógenas de menos a más selectivas son el agar eosina azul de metileno (EMB), agar Mac Conkey, agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD), el agar Hektoen y el agar *Salmonella-Shigella* (Prats y Mirelis, 2012, p.1).

### **1.2.3. *Staphylococcus aureus***

Los estafilococos son cocos gram positivos que requieren de una fuente de nitrógeno orgánico para su crecimiento, se encuentran comúnmente en fosas nasales, la piel de humanos y otros mamíferos y su detección se utiliza como criterio microbiológico para alimentos cocidos, para productos que han sido sometidos a una excesiva manipulación durante su preparación y para aquellos manipulados después de un proceso térmico. Estos generalmente son eliminados al momento de la cocción por lo que su presencia en alimentos sometidos a un tratamiento térmico refiere su contaminación posterior a este tratamiento. La presencia de *S.aureus* indica un potencial riesgo para la salud, ya que un número elevado significa la presencia de toxinas termoestables es decir enterotoxinas en los alimentos (González, 2018, p.3) .

Respecto a la intoxicación provocada por *S. aureus* la mayoría de brotes son por coagulasa positiva, ya que las cepas coagulasa negativa son casi incapaces de producir enterotoxinas, para su análisis microbiológico es necesario utilizar pruebas bioquímicas y medios de cultivo especiales que permitan su detección basándose en enzimas y toxinas producidas por este microorganismo dentro de los agares selectivos para su identificación están agar Baird-Parker, agar salado manitol, agar estafilococos N°110 y agar DNAsa (Zendejas, Avalos y Soto, 2014, pp.130-135).

### **1.3. Ventas Ambulantes**

La venta callejera de alimentos es una práctica muy común en varios lugares del mundo, la comisión FAO/OMS del Codex Alimentario define a estos como alimentos listos para su consumo que son preparados y/o comercializados por vendedores fijos o ambulantes principalmente en las calles y otros lugares públicos similares a este. Aunque estos alimentos constituyen una fuente importante de nutrientes a un bajo costo listo para el consumo de la población urbana, estos conllevan a varios riesgos sanitarios que pueden poner en contra sus beneficios, estos alimentos son de muy diversos tipos, y poseen diversos procesos de elaboración, métodos de comercialización y consumo. Estos comúnmente reflejan la cultura local y tradicional de una población determinada, pudiendo tener dentro de estos una pequeña clasificación: (FAO/OMS, 2010, p.4)

- Alimentos preparados por productores pequeños
- Alimentos preparados en el hogar
- Alimentos preparados en mercados
- Alimentos preparados en la calle

Un alimento de venta callejera es considerado como cualquier comida o bebida no alcohólica lista para el consumo humano y la cual es preparada y/o vendida en las calles, vías públicas o en zonas que han sido autorizadas por autoridades competentes dentro de cada zona (Morales, Herrera y Jiménez, 2019, pp. 16-18), es por eso que según este concepto se puede definir que estos alimentos son todos los que se pueden encontrar en sitios cercanos a escuelas, universidades, estaciones de buses, hospitales y diferentes lugares de trabajo. Son considerados alimentos más económicos de ahí la preferencia que poseen, siendo al igual una práctica habitual en varias partes del mundo; y aunque son considerados una fuente de nutrientes de bajo costo tienen riesgos sanitarios que pueden llegar a contrarrestar sus beneficios (Morales, Herrera y Jiménez, 2019, pp. 16-18).

Todos estos alimentos callejeros se manipulan, procesan y almacenan con métodos muy tradicionales según el lugar y el alimento que sea preparado, además de esto poseen deficiencias en cuanto a la calidad de materias primas utilizadas para la preparación, pudiendo significar un deterioro significativo, otro factor es como los vendedores callejeros no poseen las instalaciones adecuadas para mantener varios de sus alimentos a una adecuada temperatura, al igual existe una ausencia total de lo que son servicios sanitarios, pudiendo significar que los manipuladores no tengan una adecuada asepsia en las manos y por otro lado las aguas residuales y basura están en constante acumulación en la calleja surgiendo un factor de contaminación teniendo como resultado que los alimentos sean contaminados por microorganismos que al crecer en altas concentraciones puedan provocar ETAs (Morales, Herrera y Jiménez, 2019, pp. 18), así la inspección sanitaria se considera un papel central en cuanto a calidad e inocuidad de alimentos en conjunto con actividades orientadas a verificar reglamentaciones sanitarias, como lo menciona la FAO.

Todos los alimentos de venta callejera son parte significativa de la dieta de muchas personas por su facilidad de acceso y costo, al igual tienen importancia ya que proporciona fuentes de empleo, a varias personas con un requerimiento de inversión inicial bajo. Al igual no existen estadísticas oficiales en cuanto a vendedores fijos y ambulantes, pudiendo ser estos permanentes o semipermanentes.

Es necesario aclarar que en la vía pública no solo se existen puestos ambulantes si no existen otros tipos de puestos que se poseen una relación muy cercana, el puesto ambulante como tal ya fue mencionado sin embargo la característica principal de este es que son preparados directamente en la vía pública no posee un destino fijo, aunque tenga un recorrido habitual hasta terminar la venta de su producto, por otro lado están las ventas semi ambulantes las cuales sus alimentos son preparados en sitios cerrados y posterior se desplazan hacia algún lugar permanente para venderlos en la calle, al igual existen puestos mixtos los cuales sus alimentos son preparados en lugares cerrados, puede despachar alimento durante el recorrido, y luego se sitúa en uno o más lugares públicos de la ciudad para el expendio definitivo. (Arroyo, Bencomo y Bianco, 2011, pp. 15)

### ***1.3.1. Lugares de expendio de alimentos como potencial fuente de contaminación***

Se menciona que un vendedor ambulante es aquel que ofrece mercancía o servicios en un lugar público o abierto al pública, al igual puede ser el que ofrece sus productos en las puertas de los domicilios, trasladándose de un lugar a otro, a pie o con el uso de un vehículo, tanto que un vendedor estacionario es aquel que ejerce la actividad de venta de bienes y servicios en puestos fijos como casetas, vitrinas o quioscos en espacios públicos (Barbosa, 2012, p.38).

### ***1.3.2. Ventas ambulantes de ceviches de chochos***

El ceviche de chocho es un plato tradicional de la ciudad de Riobamba, en cual consiste en un plato frío, a base de chochos y jugo cítrico donde se produce la maceración de todos los ingredientes, siendo un producto altamente comercializado en la ciudad mencionada. Este plato es una de las recetas más conocidas en Riobamba. Este nutritivo y delicioso plato se prepara con jugo puro de tomate riñón, chochos pelados, maíz, tostado, cebollas, hierbitas y cuero u oreja de cerdo; ingredientes que son escogidos al gusto de los comensales; quienes además deben sazonar su propio plato con limón, sal, aceite, pimienta y ají al gusto (GoRaymi, 2015, p.1).

A nivel de Riobamba, se conocen varios lugares en donde se comercializa este plato ya sea en puestos fijos y ambulantes, estos últimos mencionados comúnmente se los observa en lugares específicos de la ciudad como son cercanos a escuelas, colegios, universidades y entre otros.

### ***1.3.3. Composición de ceviche de chochos***

Los principales ingredientes utilizados en la elaboración del tradicional ceviche de chochos son chocho pelado, jugo de tomate riñón fresco y maduro, cuero de cerdo cocido, cebolla Paitaña picada en pluma y tomate riñón picada en trozos, cilandro, maíz tostado, chifles de verde y canguil, esta es la base como tal del ceviche de chochos posteriormente al gusto de comensal se adiciona lo que es sal, pimienta y aceite (Mendoza, 2017, pp.92-93)

### ***1.3.4. Ceviche de chochos como patrimonio***

El ceviche de chochos es un plato típico de la ciudad de Riobamba, que como fue mencionado contiene jugo de tomate espeso, chocho sin cascara, cebolla encurtida, cuero u oreja de cerdo,

esta receta acompañada de canguil, chifles, maíz tostado, donde se mencionada que se adiciona el ají rojo y blanco algo muy tradicional, este plato fue elaborado por primera vez por la creatividad y necesidad en el año 1974, hace ya 46 años atrás, donde una ciudadana de Riobamba celebra el bautizo de su primera hija, y entre sus invitados estaban arquitectos e ingenieros cubanos, compañeros de trabajo de su esposo y al momento de realizar el menú ofreció un palto nuevo que fue ceviche de pollo y cuero de cerdo, naciendo desde ahí esta tradición (Mendoza, 2017, pp.6-7)

El trabajo principal de la creadora de este tradicional plato era el pelado de chochos, es por eso que se le ocurrió la elaboración de un ceviche acompañado de este grano, en la celebración mencionada uno de los invitados menciona lo agradable que era y la recomendación fue comercializarlo debido a su gran sabor y a lo innovador que era, es por eso que desde aquí empieza la comercialización de este plato a creación de la señora Lorenza Guamán (Mendoza, 2017, p.7)

#### **1.4. Prácticas correctas de higiene**

La higiene alimentaria constituye un conjunto de medidas que buscan garantizar la seguridad y salubridad de cualquier producto alimenticio, todas estas medidas abarcan las fases posteriores a una producción primaria como lo es la recolección, sacrificio o similares, y se incluyen la manipulación, preparación, fabricación, la transformación, almacenamiento, transporte, distribución y venta hacia el consumidor (Latour, 2019, p.2)

##### ***1.4.1. Manipulación de alimentos***

La palabra manipulación hace referencia a operar con las manos o cualquier otro instrumento los alimentos durante procesos como la preparación, fabricación, transformación, envasado, transporte, almacenamiento, suministro y venta de los mismos (Chavez Lucio, 2010, p.4).

##### ***1.4.1.1. Importancia de la manipulación de alimentos***

La manipulación adecuada de alimentos desde el momento en el que se producen hasta su consumo incide directamente sobre la salud de la población, donde la inadecuada manipulación interfiere de forma directa en la producción de enfermedades transmitidas por alimentos, donde las medidas más eficaces para su prevención son las higiénicas ya que la mayoría de las veces el

manipulador es el vehículo de transmisión por medio de incorrectas actuaciones. El manipulador en cualquiera de sus modalidades tiene la amplia responsabilidad de proteger y respetar la salud de sus consumidores por medio de una manipulación adecuada, y así se puede mencionar que el manipulador debe:

- Adquirir los conocimientos necesarios en materia objeto de su trabajo, el manejo de alimentos.
- Desarrollar actitudes que impliquen a la conducta personal con beneficio para sus funciones, incluyendo: higiene personal y organización en su trabajo. (Chavez Lucio, 2010, pp.4-6)

#### *1.4.1.2. Factores que influyen en la manipulación de alimentos*

Los buenos hábitos para el manejo higiénico de los alimentos deben ser aplicados desde una actitud responsable y como el medio más seguro para evitar enfermedades, ya que la causa principal de contaminación de los alimentos es la falta de higiene en la manipulación, ya que las personas encargadas de esta labor juegan un papel fundamental para corregir cualquier situación negativa de la manipulación.

Estado de salud: Si el manipulador posee un estado de salud deficiente principalmente en vías respiratorias o del estómago, a su vez la presencia de heridas o infecciones en la piel, lo correcto es que se evite la preparación de alimentos en este estado, ya que se tiene un alto porcentaje de contaminación, se recomienda que este se encargue de otra labor mas no del contacto directo de alimentos (Organización Panamericana de la Salud, 2014, p.16), es muchos establecimientos las autoridades exigen la realización de estudios médicos o de laboratorio, sin embargo en los puestos ambulantes este puede ser un factor clave para la contaminación de alimentos.

Higiene personal: Cualquier tipo de prevención de contaminación alimentaria se fundamenta en la higiene del manipulador, así el lavado de manos antes de tocar cualquier tipo de alimento y luego de cualquier situación o cambio de actividad que involucre que los alimentos se hayan contaminado es fundamental, generando así un hábito el lavado de manos, es recomendable aplicar el lavado de manos al momento de tocar alimentos crudos y luego tener que tocar superficies u otros alimentos, luego de usar el sanitario, luego de rascarse cualquier parte del cuerpo, etc, al igual se recomienda que el lavado de manos se lo realice con agua potable junto con la acción de jabón, dentro de este punto se manifiestan los hábitos higiénicos las cuales incluyen las actitudes responsables de los manipuladores (Organización Panamericana de la Salud, 2014, pp.16-17).

La higiene del manipulador es de suma importancia, en cuanto a la suciedad de las manos, uñas, pelos, ropa, etc., ya que en la actividad diaria estos factores pueden entrar en contacto con los

alimentos que son preparados o servidos, al igual el manipulador debe estar consciente de la responsabilidad que posee sobre su trabajo.

Vestimenta: La indumentaria adecuada es un factor fundamental, esta debe ser limpia y exclusiva del establecimiento, teniendo en cuenta lo necesario. El pelo puede ser un medio de contaminación importante para los alimentos, este debería estar recogido y el uso de cubrecabezas, evitando la caída de superficies y por lo tanto la contaminación. Es importante también el uso de guantes, y la utilización de joyas y cualquier objeto personal esta demás en cuanto a la manipulación de alimentos (Latour, 2019, pp.8-10).

La ropa de uso diario incluyendo el calzado son una posibilidad de contaminación, es por eso que llevar la indumentaria adecuada al momento de preparar y servir alimentos son considerados un punto clave:

- Gorra, cofia que permitan la protección total de cabello, evitando su caída o cualquier elemento derivado de este.
- Mascarilla, esta será usada de forma correcta que permita la protección total de nariz y boca evitando que los alimentos sean contaminados de gotitas.
- Delantal plástico para cualquier tipo de operación que requiera protección.
- Guantes, este puede ser uno de los elementos más importantes en cuanto a protección puesto que muchas veces los alimentos son preparados directamente con las manos, a su vez una recomendación es que si el uso de guantes no es posible se lleve a cabo el uso de utensilios (Organización Panamericana de la Salud, 2014, pp.17).

Hábitos deseables e indeseables: dejando a un lado los hábitos referidos a la higiene personal y la vestimenta el manipulador debe tomar conciencia a otros aspectos como lo son:

- Lavar correctamente los utensilios y superficies previo a la preparación de cualquier alimento y después de su uso.
- Si se tienen utensilios para la servida de los alimentos estos deben estar en perfectas condiciones y propiamente lavados antes y después de su uso.
- Evitar el uso de accesorios como lo son anillos, relojes entre otros que puedan alojar bacterias de cualquier forma (Organización Panamericana de la Salud, 2014, pp.18).

#### *1.4.1.3. Capacitación del personal*

Los manipuladores de alimentos deben ser capacitados con el fin de mejorar la inocuidad y calidad de los alimentos, ya que por la actividad que realizan se encuentran en contacto directo con los mismos, para poder mejorar la calidad e inocuidad de los alimentos es importante la formación del consumidor, de los proveedores, productores, comercializadores, y de todos aquellos que se

incluyen la cadena alimentaria, fomentando la educación, comunicación y capacitación en cuanto a prácticas correctas de higiene, agrícolas, de fabricación. El capacitar al personal dentro de un servicio de alimentación sobre la manipulación higiénica aporta a que los trabajadores incrementen sus destrezas en identificar y aplicar acciones sanitarias optimas en cuanto a los diferentes a los cuales son sometidos los alimentos, por otro lado, los manipuladores, posterior a la adquisición de nuevos conocimientos podrán tener una mayor seguridad en trabajo y por lo tanto este será más productivo (Tenemaza, 2014, p.45).

Toda capacitación debe ser constante lo que motiva la mejora continua, por medio de la reducción de errores y aumento de la agilidad para realizar el trabajo, pero fundamentalmente para que el personal tenga claro que el tener una correcta higiene general y personal son la base para prevenir la aparición de enfermedades transmitidas por alimentos según el Reglamento Ecuatoriano de Buenas Prácticas para Alimentos Procesados (2002) menciona en su Art11: que toda planta que sea procesadora de alimentos deberá implementar un planes de capacitación para todo el personal con el fin de la adaptación de cualquier tipo de tarea (Tenemaza, 2014, p.45).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Localización de estudio

Las muestras tomadas se realizaron en la ciudad de Riobamba, en los puestos ambulantes de ceviches de chochos de la parroquia Velasco.

El estudio microbiológico se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### 2.2. Factores de estudio

##### 2.2.1. *Población de estudio*

Ceviches de chochos expendidos en 5 puestos ambulantes de la parroquia Velasco de la ciudad de Riobamba.

##### 2.2.2. *Período de la investigación*

La investigación se llevó a cabo en el período Septiembre – Noviembre del año 2020

##### 2.2.3. *Tamaño de la muestra*

El estudio se enfoca en obtener muestras de puestos ambulantes que utilicen carros de venta para su expendio, se tomaron 5 muestras, las cuales se subdividen en 5 submuestras cada puesto, donde se incluye el ceviche de chochos completo, y cada ingrediente utilizado para su preparación los cuales son los chochos, el jugo de tomate, el cuero de chanco y el encurtido de cebollas, tomate y hierbitas, con el fin de observar que ingrediente es el contaminante, de cada muestra madre se realizó 5 diluciones, analizando de ellas la más pertinente según la muestra.

#### **2.2.4. Técnicas de recolección de datos**

- Lista de verificación para evaluar el cumplimiento de la aplicación de buenas prácticas de higiene en el momento en el que se expenden los ceviches de chochos.
- Distintas técnicas para el análisis microbiológico de ceviches de chochos, incluyendo preparación de agares, caldos de cultivo y pruebas bioquímicas de identificación.
- Instructivo para la preparación y venta de ceviches de chochos en puestos ambulatorios

### **2.3. Materiales, Equipos y Reactivos**

#### **2.3.1. Materiales**

- Algodón
- Aguja de inoculación
- Asa de Digralsky
- Asa en argolla de inoculación
- Bajalenguas
- Bolsas de tela para esterilizar
- Cinta masking
- Frascos
- Fundas de plástico
- Fundas para stomacher
- Gasas
- Gradilla
- Huevo de gallina
- Matraces Erlenmeyer
- Mecheros de alcohol
- Micropipetas
- Papel aluminio
- Papel Parafilm
- Pera de succión
- Pipetas graduadas
- Placas portaobjetos
- Placas Petri de vidrio

- Probetas
- Puntas para micropipetas
- Vasos de precipitación
- Toallas de papel
- Tubos de ensayo

### **2.3.2. Equipos**

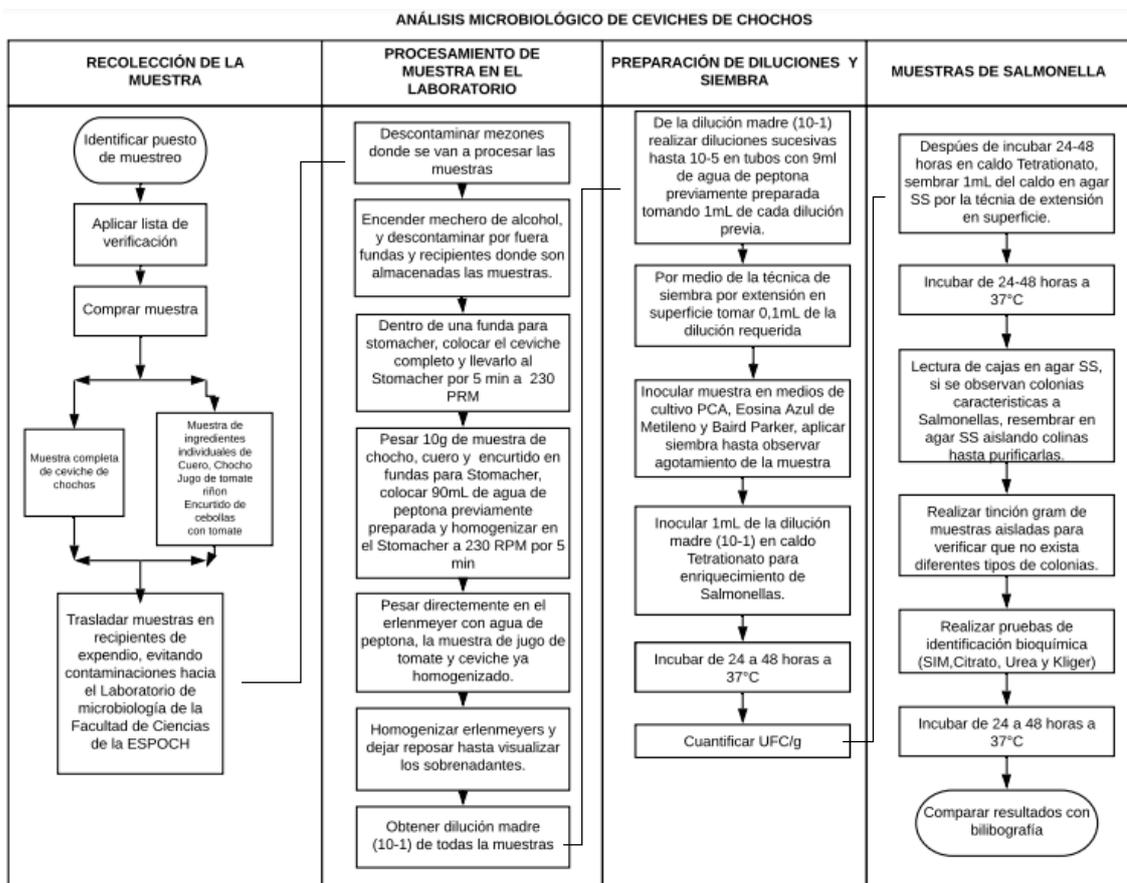
- Autoclave
- Balanza
- Cámara de flujo laminar
- Estufa
- Homogenizador Stomacher
- Microscopio
- Refrigerador
- Reverbero
- Vórtex

### **2.3.3. Reactivos**

- Aceite de inmersión
- Agar Eosina azul de metileno
- Agar Baird Parker
- Agar Kligler
- Agar PCA
- Agar SS
- Agar urea
- Agua destilada
- Agua peptonada
- Alcohol potable
- Alcohol cetona
- Caldo tetracionato
- Cristal violeta
- Lugol
- Suero fisiológico

- Safranina
- Telurito
- Yodo
- Yoduro de potasio

## 2.4. Metodología



**Gráfico 1-2: Metodología para análisis microbiológico de ceviche de chochos**

Realizado por: Calderón, C. 2020

### 2.4.1. Preparación de agua de peptona

Previo a realizar el procedimiento se debe realizar una desinfección y limpieza completa del área y materiales que se utilizaran.

#### Procedimiento:

- Preparar agua de peptona al 1% (1g en 100mL)
- Pesar y colocar en un matraz erlenmeyer medio de cultivo agua de peptona y añadir agua destilada al volumen requerido.

- Diluir perfectamente hasta la desaparición de grumos.
- Disponer agua de peptona en envases definitivos (Erlenmeyer con 90 mL para soluciones madre y tubos con 9mL para demás diluciones).
- Esterilizar en el autoclave por 30 min a 121°C.

### ***1.1.2. Preparación de muestras***

Están son preparadas según el tipo de muestra que se tiene, ya sea el ceviche completo, jugo de tomate, cuero, chochos y encurtido de cebollas con tomates.

#### **Procedimiento:**

- Limpiar con alcohol cualquier empaque que contenga las muestras.
- Colocar muestras sobre una superficie limpia y seca.
- Encender lámpara de alcohol para mantener condiciones de esterilidad,
- La muestra de ceviche completo colocar en una bolsa para homogenizador Stomacher y colocar en el equipo a 230 RPM por 5 minutos.
- Para las muestras de chocho, cuero y encurtido, pesar 10g en una bolsa para homogenizador Stomacher y colocar 90mL agua de peptona estéril preparada previamente.
- Enviar muestras a Stomacher a 230 PRM por 5 min.
- Las muestras de ceviche completo ya homogenizado y jugo de tomate, pesar directamente en el Erlenmeyer con 90 mL de agua de peptona estéril preparada previamente y homogenizar.
- Dejar reposar hasta observar sobrenadante.
- Colocar muestras homogenizadas en la cámara de flujo laminar, obteniendo diluciones madre.

### ***1.1.3. Preparación de diluciones***

- Tomar 1mL de dilución madre ( $10^{-1}$ ) con ayuda de una micropipeta.
- Colocar en un tubo de ensayo con 9mL de agua de peptona estéril, obteniendo la segunda dilución ( $10^{-2}$ ).
- Desechar y cambiar de punta para micropipeta.
- Tomar 1mL de segunda dilución y colocar en otro tubo de ensayo con 9mL de agua de peptona, obteniendo tercera dilución ( $10^{-3}$ ).
- Repetir procedimiento hasta llegar a la quinta dilución ( $10^{-5}$ ).

Para el análisis microbiológico se utilizaron diluciones a conveniencia de la carga microbiana de la muestra, realizando un duplicado y un blanco para cada análisis.

Las colonias fueron convertidas a UFC/g por medio del manual de Análisis Microbiológico de los alimentos que por medio de la ISO 7218:2007 detalla diferentes métodos de cálculos, en dependencia de las colonias obtenidas (ANMAT, 2017<sup>a</sup>, pp. 21-23).

#### **2.4.2. Recuento de Aerobios mesófilos**

**Medio de cultivo:** Plate Count Agar

**Preparación del medio:** 23,5g en 1000 mL de agua destilada.

- Pesar cantidad requerida y medir volumen de agua en un erlenmeyer
- Colocar medio de cultivo y disolver al calor con agitación constante hasta ebullición.
- Esterilizar en el autoclave a 121°C por 20 min y enfriar hasta aproximadamente 40°C
- Repartir en placas Petri estériles y dejar enfriar por completo.
- Invertir placas y conservar en refrigeración hasta su uso.

**Procedimiento de siembra:** Extensión en superficie

- Codificar placas Petri con fecha, medio de cultivo, muestra y dilución correspondiente.
- Colocar 100 µl de cada dilución a realizarse sobre la superficie del medio PCA con una micropipeta desinfectada y puntas estériles.
- Estriar sobre la superficie del medio con el asa de Drigalsky hasta el agotamiento de la muestra.
- Invertir placas e incubarlas.

**Incubación:** En aerobiosis a 35°C por 24-48 horas.

**Interpretación de resultados:** Las colonias son de color blanco cremoso con diámetro aproximado de 2 a 3 mm, todas las colonias son incluidas en el contaje, las colonias diseminadas o dispuestas en rosario se consideran como una colonia y reportarlas como UFC/mL.

#### **2.4.3. Recuento de *Staphylococcus aureus***

**Medio de cultivo:** Baird-Parker

**Preparación del medio:** 63g en 950 mL de agua destilada.

- Pesar cantidad requerida y medir volumen de agua en un erlenmeyer
- Colocar medio de cultivo y disolver al calor con agitación constante hasta ebullición.

- Esterilizar en el autoclave a 121°C por 20 min y enfriar hasta aproximadamente 50°C
- Añadir 50 mL de emulsión de yema de huevo y 10 mL de solución de telurito por cada 950 mL
- Repartir en placas Petri estériles y dejar enfriar por completo.
- Invertir placas y conservar en refrigeración hasta su uso.

**Preparación de emulsión de yema de huevo:**

- Lavar y desinfectar huevo de gallina criolla.
- Colocar huevo en un recipiente con alcohol al 96% por una hora.
- Secar huevo y pesar en condiciones estériles la yema en una caja Petri, y multiplicar por 4 el peso de la yema.
- El resultado de la multiplicación será la cantidad de agua que se tiene que adicionar.
- Mezclar agua destilada con la yema, evitando la formación de burbujas.

**Preparación de solución de telurito:**

- Pesar 1g de telurito y añadir a un erlenmeyer con 100 mL de agua destilada.
- Disolver y autoclavar por 15 min a 121°C.
- Dejar enfriar

**Procedimiento de siembra:** Extensión en superficie

- Codificar placas Petri con fecha, medio de cultivo, muestra y dilución correspondiente.
- Colocar 100 µl de cada dilución a realizarse sobre la superficie del medio Baird-Parker con una micropipeta desinfectada y puntas estériles.
- Estriar sobre la superficie del medio con el asa de Drigalsky hasta el agotamiento de la muestra.
- Invertir placas e incubarlas.

**Incubación:** En aerobiosis a 35-37°C por 24-48 horas

**Interpretación de resultados:** Las colonias aparecen sobre el medio de color negras, brillantes, convexas y rodeadas por un halo claro, con un diámetro aproximado de 2 a 5 mm.

**2.4.4. Recuento de Enterobacterias**

**Medio de cultivo:** Eosina Azul de Metileno (EMB)

**Preparación del medio:** 36g en 1000 mL de agua destilada.

- Pesar cantidad requerida y medir volumen de agua en un erlenmeyer
- Colocar medio de cultivo y disolver.
- Esterilizar en el autoclave a 121°C por 20 min y enfriar hasta aproximadamente 40°C
- Repartir en placas Petri estériles y dejar enfriar por completo.
- Invertir placas y conservar en refrigeración hasta su uso.

**Procedimiento de siembra:** Extensión en superficie

- Codificar placas Petri con fecha, medio de cultivo, muestra y dilución correspondiente.
- Colocar 100 µl de cada dilución a realizarse sobre la superficie del medio EMB con una micropipeta desinfectada y puntas estériles.
- Estriar sobre la superficie del medio con el asa de Drigalsky hasta el agotamiento de la muestra.
- Invertir placas e incubarlas.

**Incubación:** En aerobiosis a 35-37°C por 24-48 horas

**Interpretación de resultados:** Colonias de color negro azulado o amarronado, con centro oscuro y brillo metálico, serán fermentadoras de lactosa o sacarosa, y colonias de color del medio, incoloras serán fermentadoras de lactosa y sacarosa. Las colonias de *Escherichia coli* adquieren un aspecto característico al ser reflejado a la luz, tomando un brillo metálico verdoso.

**2.4.5. Activación de Salmonella**

**Medio de cultivo:** Caldo de tetracionato

**Preparación del medio:** 46g en 1000 mL de agua destilada estéril.

- Medir volumen de agua destilada en un erlenmeyer y esterilizar al autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Pesar cantidad requerida, colocar medio de cultivo en erlenmeyer.
- Disolver al calor hasta ebullición y no llevar al AUTOCLAVE
- Adicionar solución yodo-yodurada (20mL por cada 1000mL)
- Repartir en tubos de ensayo estériles.

**Preparación de solución yodo-yodurada:** Disolver 6g de yodo + 5 g de yoduro de potasio en 20 mL de agua destilada estéril, mezclar y conservar en frasco de color ámbar estéril.

**Procedimiento de siembra:**

- Codificar tubos de ensayo con fecha, medio de cultivo y muestra

- Colocar 1000 µl de dilución madre con una micropipeta desinfectada y puntas estériles.
- Homogenizar con un vórtex

**Incubación:** En aerobiosis a 35-37°C por 24 horas.

#### **2.4.6. Determinación de Salmonella en agar SS**

**Medio de cultivo:** *Salmonella-Shigella* (Agar SS)

**Preparación del medio:** 60g en 1000 mL de agua destilada.

- Medir volumen de agua destilada en un erlenmeyer y esterilizar al autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Pesar cantidad requerida, colocar medio de cultivo en erlenmeyer.
- Disolver al calor hasta ebullición y no llevar al AUTOCLAVE
- Repartir en placas Petri estériles y dejar enfriar por completo.
- Invertir placas y conservar en refrigeración hasta su uso.

**Procedimiento de siembra:** Extensión en superficie

- Codificar placas Petri con fecha, medio de cultivo, muestra y dilución correspondiente.
- Colocar 100 µl de caldo de tetrionato de cada muestra sobre la superficie del agar SS con una micropipeta desinfectada y puntas estériles.
- Estriar sobre la superficie del medio con el asa de Drigalsky hasta el agotamiento de la muestra.
- Invertir placas e incubarlas.

**Incubación:** En aerobiosis a 35-37°C por 24-48 horas

**Interpretación de resultados de resultados:** Las colonias lactosa-positiva aparecen de color rosa o rojo, las colonias lactosa negativas son incoloras y se pueden visualizar bacterias productoras de ácido sulfhídrico por reducción del tiosulfato, que en presencia de iones de hierro producen colonias con centro negro.

#### **2.4.7. Aislamiento y purificación de Salmonellas**

- Tomar colonias de bacterias con características propias de *Salmonella*
- Sembrar en cajas Petri con medio de cultivo SS con un asa de argolla esterilizada a la llama del mechero por el método de siembra en estría.
- Incubar en aerobiosis a 35-37°C por 24-48 horas
- Tomar una sola colonia y estriar en un nuevo medio de cultivo.
- Resembrar hasta observar colonias visiblemente puras.

#### **2.4.8. Tinción Gram**

- Tomar una pequeña parte de una colonia con ayuda de un asa estéril.
- En una palca portaobjetos colocar una gota de solución de cloruro de sodio al 0,9%.
- Suspender muestra en solución y homogenizar.
- Fijar la muestra en la placa pasándola por la llama del mechero de forma que la placa corte la llama, repetir procedimiento por 5 veces.
- Cubrir la muestra con cristal violeta por 1 minuto y lavar con agua corriente quitando el exceso cuidadosamente.
- Cubrir con lugol por 1 minuto y lavar con agua corriente quitando el exceso cuidadosamente.
- Añadir alcohol-acetona por 30 segundos o hasta desteñir el colorante y lavar con agua corriente.
- Cubrir con safranina por 1 minuto y lavar con agua corriente quitando el exceso cuidadosamente.
- Dejar secar
- Colocar 1 gota de aceite de inmersión y leer al microscopio con el lente de 100x.

#### **2.4.9. Identificación de Salmonellas mediante pruebas bioquímicas**

##### **2.4.9.1. Kliger Hierro Agar**

**Preparación de medio de cultivo:** 52g en 1000mL de agua destilada

- Pesar cantidad requerida y medir volumen de agua en un erlenmeyer
- Colocar medio de cultivo y disolver hasta ebullición.
- Esterilizar en el autoclave a 121°C por 20 min y enfriar hasta aproximadamente 40°C

- Repartir en tubos de ensayo estériles y dejar enfriar por completo en posición inclinada, de forma que forme un pico de flauta.

**Inoculación:** Con una aguja de inoculación tomar colonia aislada y sembrar por picadura hasta 0,6 cm del fondo. Retirar aguja y siguiendo el mismo camino de entrada y sin volver a cargar el asa se siembra en estría la superficie del pico de flauta.

**Incubación:** En aerobiosis a 35-37°C por 18-24 horas

**Interpretación de resultados:** Se tomarán en cuenta los siguientes aspectos

- Producción de ácido a partir de glucosa: Se observa en la parte inferior del medio un cambio de color de rojo-naranja a amarillo.
- Producción de gas a partir de glucosa: Aparición de burbujas en la parte inferior del medio, por una producción de grietas en su interior o una elevación del medio que se separa del fondo.
- Producción de ácido a partir de lactosa: Cambio de color de rojo a amarillo es la parte del pico de flauta.
- Producción de sulfhídrico: Ennegrecimiento del medio en la línea de inoculación o sobre la capa superficial, puede ennegrecerse todo el medio ocultando reacción acida en la parte inferior del tubo, pero si se ha formado  $\text{SH}_2$  existe una condición ácida entonces reportar como positivo a la producción de ácido a partir de glucosa.

#### 2.4.9.2. Agar SIM

**Preparación de medio de cultivo:** 30g en 1000mL de agua destilada.

- Pesar cantidad requerida y medir volumen de agua en un erlenmeyer
- Colocar medio de cultivo y disolver hasta ebullición.
- Esterilizar en el autoclave a 121°C por 20 min y enfriar hasta aproximadamente 40°C
- Repartir en tubos de ensayo estériles y dejar enfriar por completo en posición vertical.

**Inoculación:** Sembrar por picadura en el centro del medio, introduciendo la aguja hasta 0,6 cm del fondo y extrayéndola, siguiendo el mismo recorrido de entrada.

**Incubación:** En aerobiosis a 35-37°C por 24-48 horas

**Interpretación de resultados:** Si el microorganismo es móvil se observará una zona de difusión del crecimiento a los lados de la línea de inoculación y si es inmóvil crecerá sobre la línea de

siembra. Para la prueba de indol, se adicionará cinco gotas del reactivo de Kovacs si se observa un anillo rojo en la superficie del medio será positivo de lo contrario negativo.

#### 2.4.9.3. Urea

**Preparación de medio de cultivo:** 21g en 1000mL de agua destilada.

- Pesar cantidad requerida y medir volumen de agua en un erlenmeyer
- Colocar medio de cultivo y disolver hasta ebullición.
- Esterilizar en el autoclave a 121°C por 20 min y enfriar hasta aproximadamente 40°C
- Añadir solución estéril de urea
- Repartir en tubos de ensayo estériles y dejar enfriar por completo en posición inclinada, de forma que forme un pico de flauta.

**Preparación de solución de urea al 40%:** Pesar 40g por 100mL de agua destilada estéril.

**Inoculación:** Efectuar un inóculo denso en la zona de pico de flauta

**Incubación:** En aerobiosis a 35-37°C por 24-48 horas

**Interpretación de resultados:** Se considera prueba positiva si el medio del cultivo adquiere una tonalidad rosada, y negativa si mantiene su coloración inicial.

#### 2.4.9.4. Simmons Citrato

**Preparación de medio de cultivo:** 24,2 g en 1000mL de agua destilada.

- Pesar cantidad requerida y medir volumen de agua en un erlenmeyer
- Colocar medio de cultivo y disolver hasta ebullición.
- Esterilizar en el autoclave a 121°C por 20 min y enfriar hasta aproximadamente 40°C
- Repartir en tubos de ensayo estériles y dejar enfriar por completo en posición inclinada, de forma que forme un pico de flauta.

**Inoculación:** Inocular en estría, en el pico de flauta empezando en el fondo hasta llegar a la parte más alta.

**Incubación:** En aerobiosis a 35-37°C por 24-48 horas

**Interpretación de resultados:** Se observa crecimiento sobre el pico de flauta y la variación de color de verde a azul.

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Resultados de lista de verificación aplicada a cada puesto de expendio

Los puestos de estudio fueron enumerados del 1 al 5 de forma aleatoria, con el fin de salvaguardar la identidad de estos.

**Tabla 1-3:** Evaluación sanitaria de puestos de ceviches de chochos

<b>Lista de verificación sanitaria para puestos de venta ambulatoria de Ceviches de Chochos:</b>										
<b>PARÁMETROS</b>	<b>Puesto 1</b>		<b>Puesto 2</b>		<b>Puesto 3</b>		<b>Puesto 4</b>		<b>Puesto 5</b>	
	<b>SI</b>	<b>NO</b>								
<b>COCHE</b>										
<b>Diseño</b>										
Estructura física en buenas condiciones de conservación.	X		X		X		X		X	
Superficies adecuadas (limpias, higiénicas, impermeable y fácil de limpiar) y lejano al piso.	X		X		X		X		X	
Posee espacio necesario para almacenamiento de materia prima y utensilios.	X		X			X	X		X	
Posee una estructura o algún tipo de barrera que brinde la protección necesaria a los alimentos de contaminantes ambientales (polvo, vectores).	X		X		X		X		X	
De uso exclusivo para expendio de alimentos		X	X		X		X			X
<b>Ubicación</b>										
Ubicación adecuada (Lugar donde no ocasione interferencia con el tráfico vehicular o peatonal)	X		X			X		X	X	
Lejano a fuentes potenciales de contaminación (basura, aguas residuales, productos químicos, instalaciones sanitarias, desagües abiertos y animales callejeros)	X			X		X		X	X	
<b>MANIPULADOR</b>										
¿Cuenta con el registro-permiso sanitario de venta emitido por la Municipalidad?	X		X			X	X		X	
Vestimenta adecuada: delantal o mandil blanco o de colores claros, limpios y en buen estado que cubra la ropa usual	X		X			X	X		X	
Cabello corto o recogido, cubierto por una red, malla o gorro (Hombres tienen la cara afeitada)	X		X		X		X		X	
Evita el uso de anillos, pulseras, aretes largos, reloj u otros accesorios	X		X			X	X		X	
Uso de guantes o manos siempre limpias, uñas cortas sin esmalte		X		X	X		X			X
Uso de mascarilla descartable o reutilizable	X		X		X		X		X	
<b>PREPARACIÓN</b>										
Materia prima se encuentra en buen estado	X		X		X		X		X	
La preparación se realiza cuidando de no contaminar los ingredientes.		X	X		X		X			X
Las materias primas son guardadas en envases adecuados y en buen estado de conservación y limpieza.		X		X		X		X		X

Utensilios y recipientes son de material inalterable o inoxidable manteniendo buenas condiciones de conservación y limpieza	X		X		X		X		X	
Higiene y desinfección constante de superficies de área de trabajo		X		X		X		X		X
El lavado de utensilios y materiales se realiza con agua potable circulante y jabón de platos, desechando el uso de baldes y recipientes con agua sin renovar.		X				X		X		X
No se visualiza cajones o canastos alrededor del coche de venta que sirvan de almacén para materias primas, utensilios o cualquier otro material	X		X		X		X		X	
<b>TRANSPORTE</b>										
El coche de venta no sirve de transporte a la materia prima	X		X			X		X	X	
La materia prima es transportada en un vehículo particular a su lugar de venta	X		X			X		X	X	
Durante el transporte la materia prima no tiene contacto con productos que pueden llegar a ser un contaminante (animales, químicos, otros alimentos) o están en contacto con el suelo	X			X		X		X	X	
<b>COMERCIALIZACIÓN</b>										
Los alimentos preparados que se exponen a la vista del público son colocados en vitrinas cerradas	X		X		X		X		X	
Los alimentos son comercializados utilizando material desechable en caso contrario se usa material inalterable o inoxidable y son lavados con agua potable circulante y jabón después de cada utilización.	X		X		X		X		X	
Materiales de plástico o papel (cucharas, servilletas) que se sirven en conjunto con el ceviche son de primer uso.	X		X		X		X		X	
No existe alimentos que estén en contacto con el piso		X	X			X		X		X
No se da una manipulación de alimentos y dinero en forma conjunta		X	X			X		X		X
No se comercializa otro tipo de alimento en el mismo coche.		X	X		X		X		X	
<b>SANEAMIENTO</b>										
En el lugar de venta se visualiza un contenedor para desperdicios, de material de fácil limpieza, con tapa y con una funda plástica para facilitar su eliminación.	X		X		X		X		X	
El expendedor lleva una correcta limpieza del puesto y áreas adyacentes.	X		X		X		X		X	
<b>TOTAL</b>	22	9	26	5	17	14	21	10	23	8
<b>PORCENTAJE DE CUMPLIMIENTO (%)</b>	71	29	83,9	16,1	54,8	45,2	67,7	32,3	74,2	25,8

Realizado por: Calderón, C. 2021

En la tabla 1-3 se observa los resultados de la lista de verificación aplicada, que consta de 6 parámetros y 31 sub-parámetros que evaluaron la calidad sanitaria de cada uno de los puestos analizados, incluyeron pautas en cuanto al diseño y ubicación del coche de expendio, manipulador, preparación de alimentos, transporte de materia prima, comercialización y saneamiento, esta lista se elaboró según el Reglamento para el control sanitario de alimentos que se expenden en la vía pública (Acuerdo Número 14381) (Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2013, pp.1-7) y listas de verificación aplicadas a otros estudios (Montero, Celaya y Martín, 2019, p.99), (Quispe y Sanchez, 2001, p.30).

Los resultados obtenidos muestran que el puesto 2 presenta un mayor porcentaje de cumplimiento (83,9), seguido de los puestos 1, 4 y 5 con 71%, 67,7%, y 74,2% respectivamente, y con menor porcentaje el puesto 3 (54,8).

Considerando cada parámetro existen significativas deficiencias en cada uno de estos, en cuanto al diseño del coche poseen un alto cumplimiento a excepción de parámetros la falta de espacio para el almacenaje de materia prima y utensilios ya que los puestos de venta al no tener espacio colocaban la materia prima en el suelo, por parte de la ubicación 3 de los puestos se encontraban cercanos a fuentes potenciales de contaminación como lo son alcantarillas, el paso constante de vehículos, animales callejeros y polvo, siendo el ente regulador de la ciudad el encargado del control de este factor.

El manipulador es un factor importante en cuanto a la presencia de microorganismos en los alimentos, aunque ocupaban medidas de bioseguridad esto se veía afectado a contaminaciones cruzadas, como es la manipulación conjunta de alimentos y dinero, 3 de los 5 manipuladores no utilizo guantes, y aunque el uso de guantes pueden crear una barrera para disminuir la transferencia de microorganismos hacia los alimentos también puede contribuir su transmisión, sobre todo cuando son utilizados por un largo periodo de tiempo (Montero, Celaya y Martín, 2019, p.99), sin visualizar un cambio de guantes en los manipuladores que los utilizaron.

Todos los manipuladores traían el cabello recogido, pero no emplearon una malla o red que les cubra, donde manuales sobre manipulación de alimentos menciona que el cabello irá recogido por un cubrecabeza por la capacidad de acumular microorganismos y suciedad se puede transmitir por caspa o caída de cabello. (Montero, Celaya y Martín, 2019, p.98). La vestimenta adecuada es importante porque la ropa puede acumular polvo y microorganismos que pasan hacia los alimentos, siendo necesario el uso de un delantal o mandil que cubra la ropa usual, 1 de 5 manipuladores no utilizaba delantal, sin embargo, no estaba completamente limpio de aquellos que si lo utilizaban.

En relación con la preparación se observó que todos los manipuladores realizaron prácticas susceptibles de causar contaminaciones cruzadas y la ausencia notable de procedimientos de desinfección, no se evidencio la limpieza de utensilios o superficies, ya que al no ser coches con mucho espacio las operaciones de manipulación se vieron limitadas, utilizaban los mismos utensilios para un solo alimento o a su vez estos estaban mezclados y la preparación de alimentos directa con las manos o guantes.

En la comercialización de alimentos se nota un deficiente cumplimiento, aunque en todos los coches existe una barrera que logra cubrir los alimentos estos permanecen durante horas a temperatura ambiente, expuesta a las condiciones ambientales creando una fuente potencial de contaminación, la OMS recomienda refrigerar alimentos cocinados y alimentos preparados mantener a una temperatura superior a 60°C antes de ser servidos, donde un alimento sometido a

tratamiento térmico puede permanecer a temperatura ambiente como máximo por dos horas (Cabrera, 2007, p.19).

En el transporte y saneamiento se contempla un alto cumplimiento, pero existen aspectos donde se visualiza contaminación cruzada, en 3 de 5 puestos la materia prima es traída al lugar de venta en un vehículo particular y previo a su ubicación en el coche estos eran colocados en el suelo, y en todos los puestos existían basureros alrededor sin ninguna cubierta.

### 3.2. Análisis Microbiológico

#### 3.2.1. Recuento de Enterobacterias, *E. coli*, *S. aureus* y Aerobios mesófilos.

**Tabla 2-3:** Recuento de microorganismos de puestos de venta analizados.

RECuento MICROBIOLÓGICO										
Límite por gramo	Enterobacterias (10 <sup>4</sup> UFC/g)		<i>E. coli</i> (10 <sup>2</sup> UFC/g)		<i>S. aureus</i> (10 <sup>2</sup> UFC/g)		A. Mesófilos (10 <sup>6</sup> UFC/g)			
<b>PUESTO 1 (P1)</b>										
	Ceviche UFC/g		Chocho UFC/g		Cuero UFC/g		Jugo UFC/g		Cebollas UFC/g	
Microorganismo	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2
Enterobacterias	>3x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	8,82 x10 <sup>5</sup>	1,55 x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>
<i>E. coli</i>	< 10000	< 10000	*7,45 x10 <sup>5</sup>	<4x10 <sup>6</sup>	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000	< 10000	*1,45 x10 <sup>5</sup>
<i>S. aureus</i>	2,97x10 <sup>6</sup>	2,10x10 <sup>6</sup>	*5,55x10 <sup>5</sup>	*6,73x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	< 10000	< 10000	< 10000	<4x10 <sup>6</sup>
A. Mesófilos	>3x10 <sup>6</sup>	2,70x10 <sup>7</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	1,05x10 <sup>7</sup>	*6,09x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>6</sup>
<b>PUESTO 2 (P2)</b>										
	Ceviche UFC/g		Chocho UFC/g		Cuero UFC/g		Jugo UFC/g		Cebollas UFC/g	
Microorganismo	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2
Enterobacterias	2,97x10 <sup>6</sup>	2,03x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	< 1000	>3x10 <sup>3</sup>	<4X10 <sup>6</sup>	1,60x10 <sup>5</sup>	<4X10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>3</sup>
<i>E. coli</i>	1,66x10 <sup>6</sup>	*2,82x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	*2,39x10 <sup>6</sup>	< 1000	< 100	< 1000	< 1000	< 1000	*6,64x10 <sup>3</sup>
<i>S. aureus</i>	<4x10 <sup>6</sup>	1,24x10 <sup>4</sup>	*4,64x10 <sup>5</sup>	*2,23x10 <sup>5</sup>	< 1000	<4x10 <sup>4</sup>	< 10000	*6,91x10 <sup>3</sup>	< 1000	>3x10 <sup>3</sup>
A. Mesófilos	*7,73x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	2,15x10 <sup>7</sup>	2,85x10 <sup>7</sup>	< 10000	>3x10 <sup>4</sup>	*5,45x10 <sup>5</sup>	*1,06x10 <sup>5</sup>	*6,55x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>4</sup>
<b>PUESTO 3 (P3)</b>										
	Ceviche UFC/g		Chocho UFC/g		Cuero UFC/g		Jugo UFC/g		Cebollas UFC/g	
Microorganismo	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2

Enterobacterias	>3x10 <sup>5</sup>	6x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	2,87x10 <sup>6</sup>	2,13x10 <sup>6</sup>	2,93x10 <sup>6</sup>	<4x10 <sup>6</sup>	<4x10 <sup>6</sup>	1,50x10 <sup>6</sup>	*6,73x10 <sup>5</sup>
<i>E. coli</i>	*1,18x10 <sup>6</sup>	<4X10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	*5,82x10 <sup>5</sup>	2,09x10 <sup>5</sup>	*2,55x10 <sup>5</sup>	< 10000	< 10000	< 10000	< 10000
<i>S. aureus</i>	*1,55x10 <sup>5</sup>	*1,82x10 <sup>5</sup>	5,27x10 <sup>5</sup>	<4x10 <sup>6</sup>	<4x10 <sup>6</sup>	*3,09x10 <sup>5</sup>	*1,36x10 <sup>5</sup>	<4x10 <sup>6</sup>	< 10000	< 1000
A. Mesófilos	2,35x10 <sup>7</sup>	1,24x10 <sup>7</sup>	3,02x10 <sup>7</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	2,99x10 <sup>6</sup>	2,85x10 <sup>7</sup>	*4,18x10 <sup>5</sup>	*6,45x10 <sup>5</sup>	1,54x10 <sup>6</sup>	*3,82x10 <sup>5</sup>
<b>PUESTO 4 (P4)</b>										
	Ceviche UFC/g		Chocho UFC/g		Cuero UFC/g		Jugo UFC/g		Cebollas UFC/g	
Microorganismo	M1	M2								
Enterobacterias	>3x10 <sup>5</sup>	2,17x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	*8,91x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	< 10000	2,41x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	< 10000
<i>E. coli</i>	*1,73x10 <sup>5</sup>	*6,82x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	6,55x10 <sup>5</sup>	< 10000	*1,54x10 <sup>6</sup>	< 1000	< 1000	<4X10 <sup>6</sup>	< 10000
<i>S. aureus</i>	*2,55x10 <sup>5</sup>	1,34x10 <sup>5</sup>	*5,73x10 <sup>5</sup>	1,31x10 <sup>6</sup>	< 1000	>3x10 <sup>4</sup>	< 1000	<4x10 <sup>4</sup>	*3,27x10 <sup>5</sup>	< 1000
A. Mesófilos	1,41x10 <sup>7</sup>	*5,45x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	6,64x10 <sup>5</sup>	1,95x10 <sup>6</sup>	<4X10 <sup>6</sup>	2,7x10 <sup>6</sup>	2,85x10 <sup>7</sup>	< 100000
<b>PUESTO 5 (P5)</b>										
	Ceviche UFC/g		Chocho UFC/g		Cuero UFC/g		Jugo UFC/g		Cebollas UFC/g	
Microorganismo	M1	M2								
Enterobacterias	>3x10 <sup>6</sup>	9,55x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	*5,55x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	*3,73x10 <sup>4</sup>	*4,91x10 <sup>4</sup>	>3x10 <sup>5</sup>	7,91x10 <sup>6</sup>
<i>E. coli</i>	< 10000	< 10000	< 10000	< 10000	< 10000	< 10000	< 10000	< 10000	< 10000	< 10000
<i>S. aureus</i>	>3x10 <sup>4</sup>	<4x10 <sup>7</sup>	<4x10 <sup>5</sup>	*8,91x10 <sup>4</sup>	>3x10 <sup>4</sup>	6,64x10 <sup>6</sup>	< 10	< 100	< 10000	1,05x10 <sup>4</sup>
A. Mesófilos	>3x10 <sup>6</sup>	1,65x10 <sup>7</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	*1,44x10 <sup>7</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	< 10000	>3x10 <sup>3</sup>	>3x10 <sup>6</sup>	*6,36x10 <sup>6</sup>

Realizado por: Calderón, C. 2021

\* número estimado de microorganismos por mililitro o gramo.

> 300/dilución de microorganismos/g

<1/dilución de microorganismos/ g

<400/dilución de microorganismos /g

En la tabla 2-3 se observan los resultados obtenidos para los dos muestreos de recuentos microbiológicos de 5 puestos de venta, donde se analizaron los siguientes microorganismos Enterobacterias totales en el que se incluye *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y aerobios mesófilos.

Para Enterobacterias en medio de cultivo EMB se realizó un conteo total sin discriminar ninguna colonia, donde los microorganismos fermentadores se caracterizan por presentar un color negro azulado o amarronado, con centro oscuro y brillo metálico, las no fermentadoras son incoloras. Para *E.coli* en este medio se contabilizaron las colonias que exhiben un brillo verde metálico característico por la rápida fermentación e lactosa (Laboratorios Britania S.A., 2015, p.11).

Según la recopilación de normas microbiológicas de los alimentos y asimilados presentado por la ciudad de Bilbao indica que en comidas preparadas con tratamiento térmico que lleven ingredientes no sometidos a tratamiento térmico que usa como referencia el real decreto RD 3484/2000 BOE 12/1/2001 señala que el valor límite del número de enterobacterias será  $10^4$  (Moragas y Bustos, 2017, p.14), así P1, P3 y P5 no cumplen este requisito en ninguno de sus ingredientes, P2 sobrepasa los límites a excepción de cuero en M1, M2 y cebollas en M2 y P4 excede los límites a excepción de jugo en M1 y cebollas en M2. Como se mencionó agar EMB sirvió para el conteo de *E. coli*, donde según la recopilación de normas microbiológicas menciona que el valor limite aceptado es  $10^2$ , así solo la muestra de cuero M1 en P2 con menos de 100 colonias es aceptable, sin embargo muchas muestras no presentaron crecimiento a concentraciones más diluidas donde según la normativa utilizada para determinar UFG/g menciona que al no tener un crecimiento se reportara como menor a 1/dilución, sin tener así la certeza de si a diluciones más concentradas se tendrá un crecimiento mayor o menor.

Según Digesa-Minsa en la Norma Sanitaria con los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para alimentos y bebidas de consumo humano menciona que para comidas preparadas que contienen ingredientes con y sin tratamiento térmico la cantidad aceptable para *Staphylococcus aureus* es hasta  $10^2$  (DIGESA, 2003, p.3), donde según los resultados obtenidos ninguno de las muestras tiene un resultado aceptable excepto de jugo en P5 en sus dos muestreos, sin embargo es el caso similar al anterior donde no se tiene crecimiento a las diluciones seleccionadas, sin tener la seguridad que a diluciones más concentradas exista un crecimiento.

Según la misma normativa de Digesa se analizó los límites aceptables para Aerobios Mesófilos indicando un valor aceptable de hasta  $10^6$ , en P1 solo jugo en M2 posee valores aceptables, P2 se obtuvieron límites aceptables en M1 y M2 de cuero, jugo y cebollas, y en M2 de ceviche y el resto de sus muestras presentaron valores muy elevados en función al valor de referencia, para P3 se tuvieron valores dentro del rango en M1 y M2 de jugo y cebollas y en M1 de cuero, así mismo el resto de sus datos tuvieron valores inaceptables, para P4 todos los valores estuvieron fuera del

rango a excepción de cuero y jugo en M1 y M2; cebollas y ceviche en M2 finalmente para P5 tan la muestra de jugo en sus dos muestreos tuvo valores aceptables y cebollas en M2.

El puesto con una mayor carga microbiana es P1 donde ninguno de sus muestreos posee un valor aceptable de microorganismos fuera de jugo en M2 y P2 es el que posee una menor carga microbiana ingresando varios de sus muestreos ingresa dentro de los valores considerados como aceptables, a su vez los ingredientes que poseen una mayor carga microbiana son el cuero y el chocho donde el chocho en ninguna de sus muestras presenta valores aceptables que por su tratamiento previo a la preparación contienen una mayor contaminación, el ceviche al ser una combinación de todos los ingredientes analizados refleja una considerable carga microbiana y el jugo y cebollas contienen una menor carga en comparación de los otros ingredientes, esto se debe a que para la preparación de jugo se utiliza tomate con un procesamiento térmico, sin embargo ninguna de las muestras analizadas son consideradas aptas para el consumo humano por el elevado crecimiento microbiano.

### 3.2.2. *Cualificación e Identificación de Salmonella spp.*

A continuación, se presentan los resultados obtenidos para *Salmonella spp.*, según las características fenotípicas en agar SS.

**Tabla 3-1:** Resultados de presencia o ausencia de *Salmonella spp.* en agar SS

<b>Cualificación para <i>Salmonella spp.</i></b>	
<b>MUESTRA</b>	<b>AUSENCIA/PRESENCIA</b>
P1	AUSENCIA
P2	AUSENCIA
P3	AUSENCIA
P4	PRESENCIA
P5	AUSENCIA

**Realizado por:** Calderón, C. 2021

En la tabla 3-3 se presentan los resultados para *Salmonella spp.*, fueron reportados por ausencia o presencia, donde según Digesa-Minsa en la Norma Sanitaria con los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para alimentos y bebidas de consumo humano menciona que para comidas preparadas que contienen ingredientes con y sin tratamiento térmico serán aptos para el consumo humano los alimentos con ausencia de este microorganismo, donde P4 es el único que presenta *Salmonella spp.*, sin embargo según la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-2013 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. SALMONELLA para reportar un alimento con presencia de *Salmonella spp.*, posterior a la purificación de colonias elegidas y confirmación bioquímica se debe realizar un estudio serológico (INEN, 2013, pp.9-12),

análisis que es este estudio no se pudo realizar, por tal razón se reportó hasta la confirmación bioquímica.

**Tabla 4-3:** Identificación bioquímica de colonias seleccionadas de *Salmonella spp.*

Muestra	Morfología	Coloración	Gram	PRUEBAS BIOQUIMICAS								Resultado	
				SIM		Kliger					Urea		Citrato
				Indol	Movilidad	Glucosa	Gas Glucosa	Lactosa	H <sub>2</sub> S				
<b>P4 Jugo</b>	Colonias redondas cremosas	Transparentes	Bacilos gram (-)	-	+	+	-	+	-	-	+	<i>Proteus vulgaris</i>	
<b>P4 Chocho</b>	Colonias redondas	Negras	Bacilos gram (-)	-	+	+	+	-	+	-	+	<i>Salmonella spp</i>	
<b>P1 Chocho A</b>	Colonias redondas	Negras	Bacilos gram (-)	-	+	+	+	V	+	V+	+	<i>Citrobacter freundii</i>	
<b>P1 Chocho B</b>	Colonias cremosas redondas	Rosa intenso	Bacilos gram (-)	+	+	+	+	+	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>	
<b>P1 Chocho C</b>	Colonias cremosas redondas	Amari-llas	Bacilos gram (-)	V	-	+	-	-	-	-	-	<i>Shigella dysenteriae</i>	

Realizado por: Calderón, C. 2021

En la tabla 4-3 se observan los resultados para la identificación por medio de pruebas bioquímicas de las colonias seleccionadas y purificadas en agar SS, todas las muestras fueron sembradas sin embargo se tomaron aquellas colonias con características fenotípicas relacionadas con *Salmonella spp*, la identificación de género y especie de cada microorganismo se realizó de acuerdo a las características presentadas en el Manual de Técnicas en Microbiología Clínica de Álvarez, Boquet Y M. de Fez (Alvarez, Boquet y de Fez, 1995, pp.74-75), para las 5 muestras identificadas P4 Chocho presenta un resultado positivo para *Salmonella spp*, para las siguientes muestras se obtuvieron los siguientes resultados P4 Jugo (*Proteus vulgaris*), para P1 se aislaron tres diferentes colonias del Chocho obteniendo en A (*Citrobacter freundii*), en B (*Escherichia coli*) y en C (*Shigella dysenteriae*). Todos los microorganismos pueden presentarse o no en alimentos, puesto que no se observaron fuentes potenciales de contaminación, estos pueden tener una fuente desde el momento en que se da un tratamiento a la materia prima antes de ser llevada al puesto de venta.

Las salmonellas no tifoideas (diferente a la Tiph y Paratyphi) son relacionadas a gastroenteritis de origen alimentario, donde los alimentos en los que se han detectado es en carne de pollo, carne de cerdo, carne de pavo, productos derivados de carne cruda, huevos y jamón de cerdo (Varela, Lavalle y Alvarado, 2016, p. 4), considerando así que el cuero utilizado para la preparación del ceviche es de cerdo se supone que la presencia de *Salmonella spp* tiene su origen en este.

Los brotes de ETA's por el consumo de alimentos contaminados por *Salmonella spp* se produce en general por la ingesta de carne vacuna, derivados de aves, huevos o productos lácteos, pero se

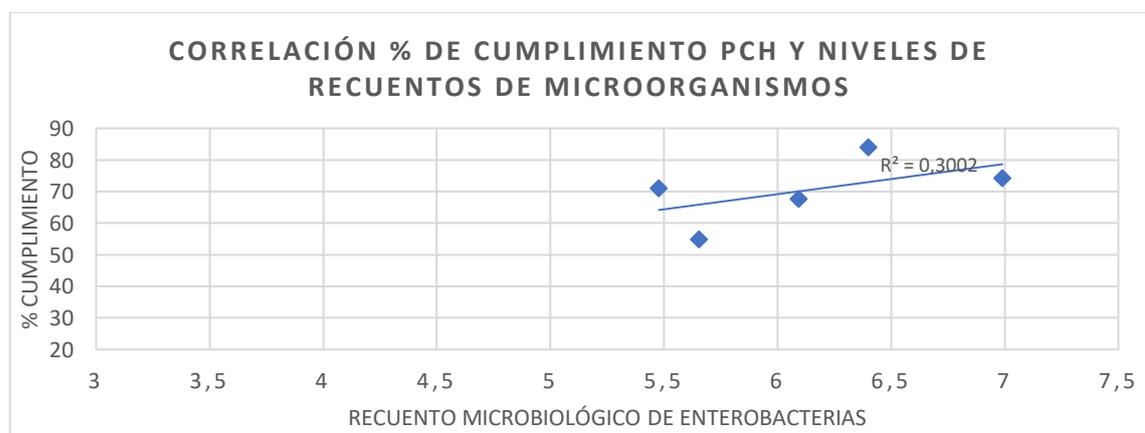
ha asociado su presencia con otros productos como tomates, melones, ensaladas de verduras sin tratamiento térmico y jugo de naranja no pasteurizado (Bayona, 2012, p.271)

Según el estudio realizado por Varela, Lavalle y Alvarado a puestos ambulantes de hamburguesa y chorizo encontraron varias especies de enterobacterias como fue *Citrobacter freunii* y *Eschreichia coli*, mismos microorganismos encontrados en este estudio, indica que *C. freunii* proviene de la carne de gallina y huevos, donde los puestos de estudio también ofrecían ceviche de pollo, pudiendo ocasionar una contaminación cruzada. *E. coli* está involucrado con carne cruda y hortalizas contaminadas por materia fecal al igual que *P. vulgaris* que puede encontrarse en el tracto intestinal de varios animales o en su materia fecal, y en verduras con un mal tratamiento higiénico (Varela, Lavalle y Alvarado, 2016, p.5)

*Shigella dysenteriae* proviene por el contacto directo o indirecto con materia fecal, por medio de aguas contaminadas, plagas como moscas y por la falta de higiene (ANMAT, 2017c, p.9), donde la presencia de todos los microorganismos encontrados se relacionan por la escasa aplicación de buenas prácticas de manipulación desde la preparación hasta la comercialización del ceviche de chochos.

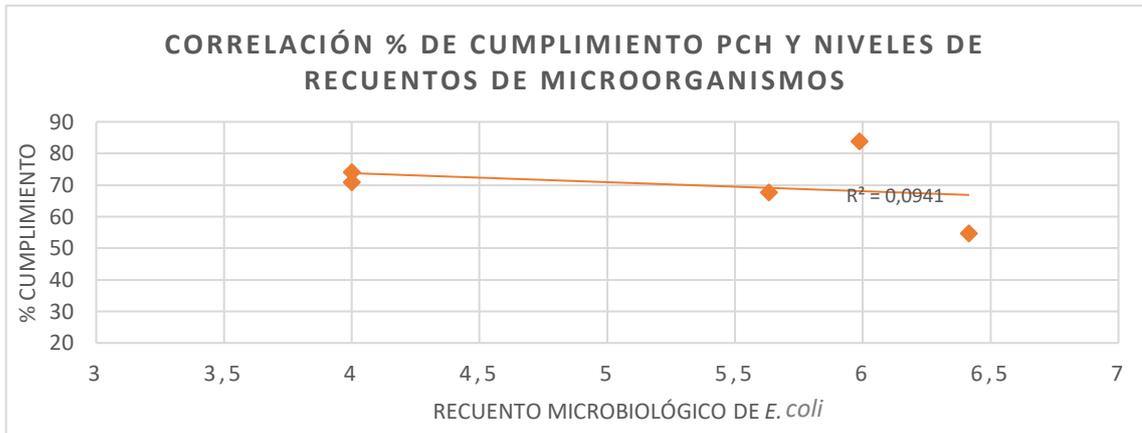
### 3.3. Relación de condiciones de expendio y análisis microbiológico

Se relacionaron los resultados obtenidos de la lista de verificación de las condiciones de expendio con los resultados del análisis microbiológico mediante  $R^2$  en una ecuación de relación.



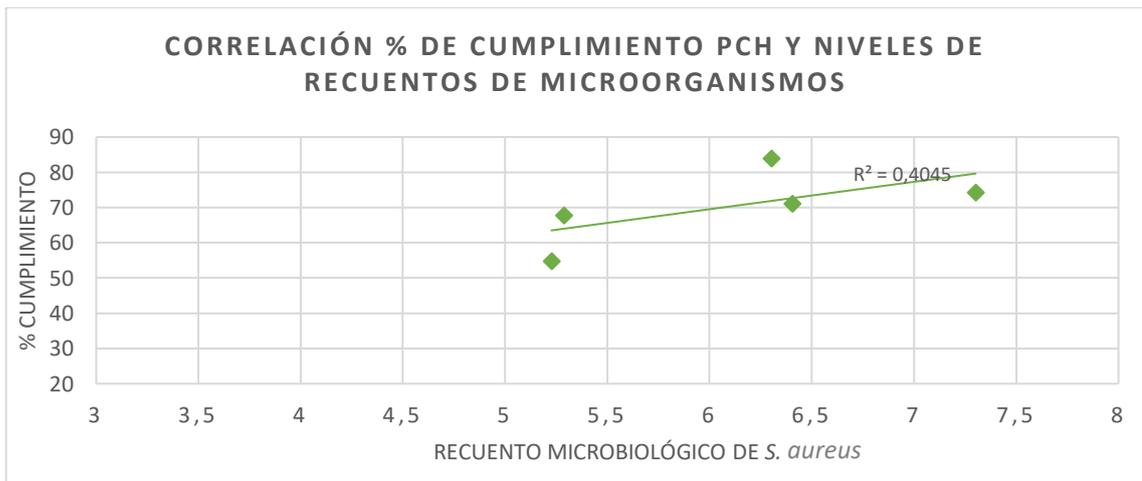
**Gráfico 1-3:** Correlación % de cumplimiento PCH y recuento microbiológico de enterobacterias.

**Realizado por:** Calderón, C. 2020



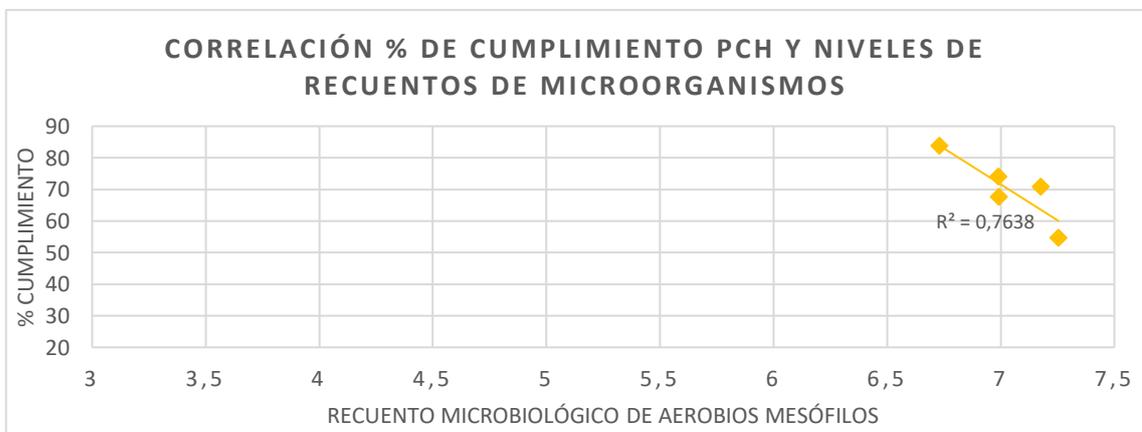
**Gráfico 2-3:** Correlación % de cumplimiento PCH y recuento microbiológico de *E. coli*

Realizado por: Calderón, C. 2020



**Gráfico 3-1:** Correlación % de cumplimiento PCH y recuento microbiológico de *S. aureus*.

Realizado por: Calderón, C. 2020



**Gráfico 4-3:** Correlación % de cumplimiento PCH y recuento microbiológico de Aerobios Mesófilos.

Realizado por: Calderón, C. 2020

Los gráficos 1-3, 2-3, 3-3, 4-3 presentan la correlación del porcentaje de cumplimiento de las practicas correctas de la lista de verificación aplicada con el conteo microbiológico del ceviche tomando el logaritmo en base 10 del promedio de sus dos muestreos, obteniendo coeficiente de determinación  $R^2$  para Aerobios mesófilos (0,7638), *S. aureus* (0,4045), Enterobacterias (0,3002) y *E. coli* (0,041), donde si el valor es más cercano a uno existe una mayor relación entre la aplicación de normas higiénicas sanitarias con respecto a la presencia de microorganismos, y de lo contrario si el valor es cercano a cero existe poca relación, así con los valores obtenidos la aplicación de las normas higiénicas tiene poca influencia con el crecimiento de microorganismos, tomando en cuenta que no se tienen datos del tratamiento previo de la materia prima utilizada para la elaboración de ceviches, o a su vez que muchas de las normas son aplicadas de forma incorrecta como es la toma conjunta de alimentos y dinero y la falta del lavado de manos.

Al tener una deficiente relación entre las normas higiénicas con el crecimiento de microorganismos, se presume que la contaminación tiene un origen desde el tratamiento de la materia prima previo a su preparación en el coche de venta, al igual una deficiente limpieza de los utensilios y el coche antes de su uso, como se ha venido mencionando las deficiencias de cumplimiento de las buenas prácticas de elaboración de alimentos, hábitos de manipuladores y condiciones de expendio de alimentos son altas, lo que implica la urgente necesidad de capacitación a manipuladores, y fortalecer desde la autoridad sanitaria aplicar una inspección adecuada de condiciones de calidad y practicas higiénicas.

La correcta higiene de los alimentos está determinada por varios factores, que incluyen las condiciones de obtención de estos, características de los medios aplicados para su transporte, las condiciones de almacenamiento, estructura del coche de venta donde los alimentos son manipulados y practicas aplicada por parte de estos (Bayona, 2012, p.274), sin embargo el evaluar factores de manipulación y tratamiento de alimentos previo a su expendio es imposible, puesto que en todos los casos de estudio los alimentos son preparados desde otro lugar y son traídos al puesto de venta para su comercialización.

## CONCLUSIONES

- Se determinaron las condiciones de expendio de 5 puestos de venta ambulantes de ceviches de chochos por medio de una lista de verificación donde se analizaron factores higiénicos aplicados en cada puesto, con deficiencias higiénicas altas, confirmando la importancia de la aplicación de normas sanitarias por parte de los manipuladores, además se pudieron identificar aspectos claves que producen contaminación directa en los alimentos, los cuales deben ser controlados asegurando así inocuidad en este producto de alto consumo en la ciudad de Riobamba.
- Se determinaron cuantitativamente los microorganismos indicadores de calidad higiénica y de patógenos causantes de ETAs, confirmando la falta de aplicación de normas higiénico-sanitarias desde la adquisición de la materia prima, su procesamiento y comercialización, constatando que el chocho es el principal ingrediente contaminante en el ceviche, así ninguna de las muestras de estudio se considera apta para el consumo humano con recuentos altos en Enterobacterias, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y Aerobios mesófilos, y con el análisis de presencia o ausencia para *Salmonella spp*, los microorganismos estudiados al sobrepasar los límites de la normativa utilizada conllevan un riesgo para la salud pública.
- Se relacionaron los resultados de la lista de verificación aplicada con respecto a la cuantificación del análisis microbiológico del ceviche por la obtención de  $R^2$  en una ecuación de relación, demostrando así que la relación entre el porcentaje de cumplimiento y la carga microbiana, aunque es baja es importante ya que los puestos de estudio aplican de manera errónea las normas higiénico-sanitarias.
- Se elaboro un instructivo sobre la correcta manipulación de alimentos y condiciones higiénicas adecuadas con el fin que este sirva como material de capacitación de los conocimientos, habilidades y conductas de los manipuladores, ya que por los resultados obtenidos se observa un deficiente conocimientos de la aplicación de prácticas correctas de higiene.

## RECOMENDACIONES

- Es necesario la inspección periódica por parte de las entidades encargadas de control sanitario en la ciudad, garantizando la inocuidad en la preparación de estos alimentos.
- Se recomienda el lavado contaste de manos y cambio de guantes por parte de los manipuladores, considerando esta una de las principales fuentes de contaminación cruzada.
- Es importante que las normas sobre la correcta manipulación de alimentos y condiciones higiénicas sean aplicadas desde el momento de adquisición de la materia hasta su comercialización.
- Es fundamental capacitar a los manipuladores de venta de alimentos ambulantes con ayuda del instructivo presentado en este trabajo de investigación, consiguiendo un producto final con mayor calidad sanitaria.
- Se recomienda la continuidad de este estudio que permita evaluar las condiciones adecuadas a las que deben ser sometidas las chochos con el fin de disminuir la carga microbiana.

## GLOSARIO

**Contaminación Alimentaria:** La contaminación alimentaria se define como la presencia de cualquier tipo de materia anormal en un alimento, comprometiendo la calidad para el consumo humano (ELIKA, 2017, p.1).

**Control Sanitario de Alimentos:** proceso de supervisión de lugares de venta y consumo de alimentos, con el fin de prevenir la contaminación de estos y evitar la aparición de enfermedades transmitidas por alimentos (Ramírez y Palacios, 2015, p.128).

**Contaminación cruzada:** Proceso por el cual una gente indeseable sea biológico, químico o físico es transportado a un alimento por manipuladores, otros alimentos, utensilios o superficies empleadas en la manipulación (Latour, 2019, p.77).

**Inocuidad:** Conjunto de condiciones y medidas requeridas al momento de producción, almacenamiento, distribución, preparación y comercialización de alimentos para asegurar que no representen un riesgo para la salud (CTIC, 2015, p.55).

**Manipulador de alimentos:** Persona que por su actividad laboral tiene directo contacto con los alimentos durante la preparación, fabricación, transformación, elaboración, distribución y venta (Chavez Lucio, 2010, p.23).

**Microbiología:** Es el estudio de microorganismos y sus actividades, con respecto a su forma, estructura, fisiología, metabolismo, reproducción e identificación (UCV, 2016, p.2)

**Microorganismo Patógeno:** Son aquellos con la capacidad de alterar las características organolépticas del alimento que ha invadido, pudiendo llegar a causar enfermedad al consumidor (Ramírez y Palacios, 2015, p.131).

**Recuento microbiano:** Es una técnica de estimación estadística que se basa en que a mayor número de bacterias en una muestra, mayor será la dilución necesitada para disminuir la densidad hasta que un número aceptable de bacterias puedan crecer en la serie de tubos de dilución (González, 2018, p.2).

## BIBLIOGRAFÍA

**AGROCALIDAD.** *I Seminario Nacional De Inocuidad De Alimentos. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca.* [en línea]. Ecuador, 2016. [Consulta: 15 octubre 2020] Disponible en: [http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/1erseminocuidadalim/Jueves15/Agricultura OrgánicaHelmutJacob.pdf](http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/1erseminocuidadalim/Jueves15/Agricultura%20OrgánicaHelmutJacob.pdf).

**ALVAREZ, M., et al.** *Manual de Técnicas en Microbiología Clínica.* España: Universidad de Salamanca. 1995, pp. 28-78.

**ANMAT.** *Microorganismos Indicadores. Análisis Microbiológico de los Alimentos.* [en línea]. Argentina, 2017a. [Consulta: 21 noviembre 2020]. Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/renaloe/docs/analisis\\_microbiologico\\_de\\_los\\_alimentos\\_vol\\_iii.pdf](http://www.anmat.gov.ar/renaloe/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf).

**ANMAT.** *Salmonelosis Enfermedades transmitidas por alimentos.* [en línea]. Argentina: 2017b. [Consulta: 13 octubre 2020]. Disponible en: <http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/salmonelosis.pdf>.

**ANMAT.** *Shigelosis Enfermedades Transmitidas por Alimentos.* [en línea]. Argentina: 2017c. [Consulta: 13 octubre 2020] Disponible en: <http://www.anmat.gov.ar/webanmat/Publicaciones/Shigelosis.pdf>.

**ARROYO, A., et al.** Perfil microbiológico de la chicha de venta ambulante en Barquisimeto, Estado Lara, Venezuela. *Salud, Arte y Cuidado* [en línea], 2011. vol. 4, no. 1, pp. 13-24. [Consulta: 20 diciembre 2020]. ISSN 1856-9528. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3697047>.

**BARBOSA, G.** Descripción de las condiciones higiénico sanitarias de la venta callejera de alimentos del Parque Nacional- Bogotá. [en línea] (Trabajo de Titulación). Pontificia Universidad Javeriana, Colombia. 2012. pp. 38. [Consulta: 21 noviembre 2020]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/12016/BarbosaMunozGinaTatiana2012.pdf?sequence=1>.

**BAYONA, M.** Prevalencia de *Salmonella* y Enteroparásitos en alimentos y manipuladores de alimentos de ventas ambulantes y restaurantes en un sector del norte de Bogotá, Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, [en línea], 2012, (Colombia) 15(2), pp. 267-274. [Consulta: 25 diciembre 2020] ISSN 0123-4226.

**CABRERA, D.** Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos. *Departamento de Inocuidad de los Alimentos, Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria de la OMS*

[en línea], 2007. 5(5), pp. 1-32. [Consulta: 2 enero 2021] Disponible en: [http://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual\\_keys\\_es.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual_keys_es.pdf).

**CAMPUZANO, F., et al.** Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. *Nova* [en línea], 2015. 13(23), pp. 81. [Consulta: 12 enero 2021] ISSN 1794-2470. DOI 10.22490/24629448.1708.

**CDC.** *La E. coli y la seguridad de los alimentos.* [en línea]. Estados Unidos, 2020. [Consulta: 20 diciembre 2020] Disponible en: <https://www.cdc.gov/spanish/especialescdc/ecoli/index.html>.

**CHAVEZ LUCIO, P.** Condiciones higiénico sanitarias de los comedores públicos del mercado municipal Bella Vista de la ciudad de Guaranda, provincia de bolívar. Propuesta de un programa educativo [en línea] (Trabajo de titulación) ESPOCH, Ecuador, 2010. pp. 25.35. [Consulta: 3 enero 2021] Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1684/1/84T00049.pdf>.

**CTIC.** *Higiene y seguridad alimentaria.* [en línea]. Rioja: CTIC, 2015. [Consulta: 27 noviembre 2020] Disponible en: [http://ctic-cita.es/fileadmin/redactores/cticcita/FORMACION/MANUAL\\_DE\\_MANIPULADOR\\_ALIMENTOS-SECTOR\\_HOSTELERIA\\_Y\\_RESTAURACION.pdf](http://ctic-cita.es/fileadmin/redactores/cticcita/FORMACION/MANUAL_DE_MANIPULADOR_ALIMENTOS-SECTOR_HOSTELERIA_Y_RESTAURACION.pdf).

**DIGESA.** *Norma sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo Humano.* [en línea]. Perú: Ministerio de Salud Publica, 2003. [Consulta: 20 enero 2021]. Disponible en: [http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma\\_consulta/Proy\\_RM615-2003.pdf](http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/Proy_RM615-2003.pdf).

**ELIKA.** *Tipos de contaminación alimentaria.* [en línea], España, 2017. [Consulta: 5 enero 2021]. Disponible en: <https://alimentos.elika.eus/wp-content/uploads/sites/2/2017/10/6.Tipos-de-contaminación-alimentaria.pdf>.

**FAO/OMS.** Medidas básicas para mejorar la inocuidad de los alimentos de venta callejera. *Red Internacional de Autoridades en materia de Inocuidad de los Alimentos (INFOSAN)* [en línea], 2010, (Ginebra) 3(1), pp. 1-6. [Consulta: 19 de diciembre 2020]. Disponible en: [https://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/No\\_03\\_StreetFood\\_Jun10\\_sp.pdf](https://www.who.int/foodsafety/fs_management/No_03_StreetFood_Jun10_sp.pdf).

**FAO.** *Prevención de la E.coli en los alimentos. El Marco de Gestión de Crisis para la Cadena Alimentaria (FCC)* [en línea]. 2011. [Consulta: 11 noviembre 2020]. Disponible en: [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/agns/pdf/Preventing\\_Ecoli\\_es.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf).

**GARCINUÑO MARTÍNEZ, R.** Contaminación de los alimentos durante los procesos de origen y almacenamiento. *Aldaba* [en línea], 2017, (España) 36(1), pp. 51-63. ISSN 0213-7925. DOI 10.5944/aldaba.36.2012.20530. [Consulta: 12 enero 2021]. Disponible en:

file:///C:/Users/Win/Downloads/Dialnet-ContaminacionDeLosAlimentosDuranteLosProcesosDeOri-4696799.pdf.

**GONZÁLEZ, C.** *Análisis de la calidad microbiológica de los alimentos procedentes de cadenas de comida rápida* [en línea]. España: UDC, 2018. [Consulta: 15 noviembre 2020] Disponible en: [https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/21542/GonzalezRodriguez\\_Cristina\\_TFG\\_2018.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/21542/GonzalezRodriguez_Cristina_TFG_2018.pdf?sequence=2&isAllowed=y).

**GORAYMI.** *Ceviches de Chocho del Coliseo*. [en línea]. Ecuador, 2015. [Consulta: 16 noviembre 2020]. Disponible en: <https://www.goraymi.com/es-ec/chimborazo/riobamba/gastronomico/ceviche-chochos-coliseo-dona-mari-a0bfd7c63>.

**NTE INEN 1529-15.** *Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. método de detección*.

**LABORATORIOS BRITANIA S.A.** *E.M.B (con eosina y azul de metileno)* [en línea]. Argentina, 2015. Disponible en: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_5a28240e1c004.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a28240e1c004.pdf).

**LATOURE, B.** Guía de Prácticas Correctas de Higiene. *Journal of Chemical Information and Modeling* [en línea], 2019 (Estados Unidos) 53(9), pp. 1689-1699. ISSN 1098-6596. DOI 10.1017/CBO9781107415324.004. [Consulta: 18 noviembre 2020]. Disponible en: <https://www.micof.es/bd/archivos/archivo2075.pdf>.

**LEÓN, B., & JUDIÁS, E.** *Higiene y manipulación de alimentos como factores de la prevención*. [en línea]. Sevilla, 2004. Disponible en: [https://personal.us.es/leonbo/Investigacion/HIGIENE\\_Y\\_CALIDAD\\_AGROALIMENTARIA.pdf](https://personal.us.es/leonbo/Investigacion/HIGIENE_Y_CALIDAD_AGROALIMENTARIA.pdf).

**MARTINEZ, M., & VERA, A.** Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria en comedores colectivos. *An. Vet.* [en línea], 1999 (España) 98(1) pp. 85-98. [Consulta: 19 noviembre 2020]. Disponible en: <https://revistas.um.es/analesvet/article/view/15881/15321>.

**MENDOZA, L.** *Análisis Gastronómico del Ceviche de Chocho en la Ciudad de Riobamba* [en línea] (Trabajo de Titulación). Universidad de Guayaquil, Ecuador. 2017. [Consulta: 2 noviembre 2020]. Disponible en: [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/20761/1/TESIS\\_Gs\\_205\\_-\\_Anali\\_Gastron\\_del\\_Ceviche\\_de\\_Chocho.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/20761/1/TESIS_Gs_205_-_Anali_Gastron_del_Ceviche_de_Chocho.pdf).

**MINISTERIO DE SALUD PUBLICA.** *Enfermedades Transmitidas por Alimentos*. [en línea]. Ecuador: 2019. [Consulta: 12 noviembre 2020]. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/07/GACETA-ETAS-SE-26-2019.pdf>.

**MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA DEL ECUADOR.** Reglamento Para El Control Sanitario De Alimentos Que Se Expenden En La Vía Pública. *Ministerio de Salud Pública del Ecuador*, [en línea]. 2013 (Ecuador) 53(9), pp. 1689-1699. ISSN 1098-6596.

**MONTERO, C., et al.** Evaluation of the hygiene and health practices in Food Trucks. Implications for Food Safety. *Nutricion Clinica y Dietetica Hospitalaria*, [en línea]. 2019. vol. 39, no. 3, pp. 96-103. ISSN 1989208X. DOI 10.12873/393montero.

**MORAGAS, M., & BUSTOS, P.** Recopilación normas microbiológicas de los alimentos y asimilados (superficies, aguas diferentes de consumo, aire, subproductos) otros parámetros fisicoquímicos de interés sanitario. *Food Sanitizer* [en línea], 2017 (España) pp. 54. [Consulta: 23 noviembre 2020] Disponible en: [https://www.euskadi.eus/contenidos/informacion/doc\\_seguridad\\_alimentaria/es\\_def/adjuntos/control-alimentos/inspecciones/normas-microbiologicas-alimentos-2017.pdf](https://www.euskadi.eus/contenidos/informacion/doc_seguridad_alimentaria/es_def/adjuntos/control-alimentos/inspecciones/normas-microbiologicas-alimentos-2017.pdf).

**MORALES, N., et al.** Diagnóstico higiénico-sanitario en venta de alimentos callejeros ubicados en la entrada de la universidad del atlántico área metropolitana de Barranquilla – Colombia. *Revista Alimentos Hoy* [en línea], 2019 (Colombia) 27(46), pp. 15-30. [Consulta: 12 noviembre 2020] Disponible en: <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/514/398>.

**OMS.** " Reglas de Oro " de la OMS para la preparación higiénica de los alimentos. [en línea]. 2010. [Consulta: 13 noviembre 2020]. Disponible en: [http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000001205cnt-2017\\_reglas-de-oro-oms-para-alimentos.pdf](http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000001205cnt-2017_reglas-de-oro-oms-para-alimentos.pdf).

**ORELLANA, P.** Manual de Procedimientos, Buenas prácticas de Higiene, Manipulación y Seguridad Alimentaria para el área de Cocina del Hospital Moreno Vázquez, Gualaceo [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Cuenca, Ecuador. 2015, pp. 30-40. [Consulta: 18 noviembre 2020]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/22380>.

**ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD.** *Manual de Capacitación para Manipuladores de Alimentos*. [en línea]. 2014. [Consulta: 26 noviembre 2020]. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/manual-manipuladores-alimentos-2014.pdf>.

**PEÑA, Y., et al.** Agentes bacterianos asociados a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en La Habana, 2006-2010. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* [en línea], 2013 (Cuba) 51(1), pp. 74-83. [Consulta: 21 noviembre 2020]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hie/v51n1/hie08113.pdf>.

**PRATS, G., & MIRELIS, B.** *Género Shigella: Aspectos prácticos para el laboratorio de Microbiología. Control de Calidad SEIMC* [en línea], 2012. [Consulta: 19 noviembre 2020]. Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/Rshigella.pdf>.

**PRESCAL.** *Manipulación de Alimentos Manual Común* [en línea]. Andalucía, 2015. [Consulta: 19 diciembre 2020]. Disponible en: [http://www.juntadeandalucia.es/empleo/recursos2/material\\_didactico/especialidades/materialdidactico\\_manipulacion\\_alimentos/PDF/Manual\\_Comun.pdf](http://www.juntadeandalucia.es/empleo/recursos2/material_didactico/especialidades/materialdidactico_manipulacion_alimentos/PDF/Manual_Comun.pdf).

**QUISPE, J., & SANCHEZ, V.** Evaluación Microbiológica y Sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de Comas, Lima - Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, [en línea]. 2001(Perú) 18(1-2), pp. 27-32. ISSN 1726-4634. DOI 10.17843/rpmesp.2001.181-2.770.

**RAMÍREZ, J., & PALACIOS, J.** Glosario de términos sobre seguridad alimentaria familiar. *Infancia y Aprendizaje*, 2015. vol. 4, no.2, pp. 123-143. ISSN 15784126. DOI 10.1080/02103702.1981.10821906.

**RODRÍGUEZ, T., et al.** Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 2015. vol. 16, no. 8. ISSN 16957504.

**TAPIA, F.** Brote de intoxicación alimentaria en el distrito 07D04 Balsas, Marcabellí, Piñas. *Salud Humana: Revista Académica Investigativa* [en línea], 2018 (Ecuador) 1(1), pp. 33-43. ISSN 2631-2492. [Consulta: 12 diciembre 2020]. Disponible en: <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/saludh/article/view/361%0Ahttp://revistas.unl.edu.ec/index.php/saludh/article/view/361>.

**TENEMAZA, E.** Evaluación del comportamiento del manipulador de alimentos en el cumplimiento de medidas de higiene y manipulación en los servicios de alimentación centro cultural y administrativo de la pontificia universidad católica del Ecuador y su relación con la presencia de alteraciones gastrointestinales durante los meses de noviembre-diciembre, 2013. [en línea] (Trabajo de titulación). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador. 2013. pp. 116. [Consulta: 18 noviembre 2020]. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/7539>

**UCV.** *La microbiología y su objetivo. Áreas que comprende.* [en línea]. 2016. [Consulta: 10 octubre 2020]. Disponible en: [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/08\\_Tema\\_1\\_objetivo\\_micro\\_e\\_historia.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_1_objetivo_micro_e_historia.pdf).

**UNAM.** *Módulo 2. Microorganismos Indicadores.* [en línea]. 2015. [Consulta: 16 noviembre 2020]. Disponible en: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2Indicadores\\_6422.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2Indicadores_6422.pdf).

**VARELA, Z., et al.** Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: Una mirada en Colombia. *Salud Uninorte*, 2016. vol. 32, no. 1, pp. 105-122. ISSN 20117531.

**VÁSQUEZ, V.** Calidad Microbiológica E Higiénico Sanitaria En Alimentos Preparados Expendidos En La Vía Pública En El Distrito De Florencia De Mora, enero a abril 2014. *Rev. Cientifi-k* [en línea], 2015(Colombia) 3(1), pp. 11-16. [Consulta: 14 noviembre 2020]. Disponible en: <http://revistas.ucv.edu.pe/index.php/CIENTIFI-K/article/view/867/677>.

**ZENDEJAS, G., et al.** Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades de patogenicidad, métodos de identificación. *Revista Biomed* [en línea], 2014. vol. 25, no. 3, pp. 129-143. [Consulta: 16 noviembre 2020]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>.

## ANEXOS

### ANEXO A Lista de verificación sanitaria para puestos de venta ambulatoria

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN “EVALUAR LA CALIDAD FÍSICO - QUÍMICA, BACTERIANA Y PARASITARIA EN LOS CEVICHES DE CHOCHOS (Producto Artesanal de Consumo Masivo, Patrimonio culinario), QUE SE PREPARAN Y SE EXPENDEN EN LA CIUDAD DE RIOBAMBA CONTRIBUYENDO A LA SEGURIDAD ALIMENTARIA”**

<b>Lista de verificación sanitaria para puestos de venta ambulatoria de Ceviches de Chochos.</b>			
Fecha:			
<b>PARÁMETROS</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>	<b>OBSERVACION</b>
<b>COCHE</b>			
<b>Diseño</b>			
Estructura física en buenas condiciones de conservación.			
Superficies adecuadas (limpias, higiénicas, impermeable y fácil de limpiar) y lejano al piso.			
Posee espacio necesario para almacenamiento de materia prima y utensilios.			
Posee una estructura o algún tipo de barrera que brinde la protección necesaria a los alimentos de contaminantes ambientales (polvo, vectores).			
De uso exclusivo para expendio de alimentos			
<b>Ubicación</b>			
Ubicación adecuada (Lugar donde no ocasione interferencia con el tráfico vehicular o peatonal)			
Lejano a fuentes potenciales de contaminación (basura, aguas residuales, productos químicos, instalaciones sanitarias, desagües abiertos y animales callejeros)			
<b>VENDEDOR</b>			
¿Cuenta con el registro-permiso sanitario de venta emitido por la Municipalidad?			
Vestimenta adecuada: delantal o mandil blanco o de colores claros, limpios y en buen estado que cubra la ropa usual			
Cabello corto o recogido, cubierto por una red, malla o gorro (Hombres tienen la cara afeitada)			
Evita el uso de anillos, pulseras, aretes largos, reloj u otros accesorios			
Uso de guantes o manos siempre limpias, uñas cortas sin esmalte			
Uso de mascarilla descartable o reutilizable			
<b>PREPARACIÓN</b>			

Materia prima se encuentra en buen estado			
La preparación se realiza cuidando de no contaminar los ingredientes.			
Las materias primas son guardadas en envases adecuados y en buen estado de conservación y limpieza.			
Utensilios y recipientes son de material inalterable o inoxidable manteniendo buenas condiciones de conservación y limpieza			
Higiene y desinfección constante de superficies de área de trabajo			
El lavado de utensilios y materiales se realiza con agua potable circulante y jabón de platos, desechando el uso de baldes y recipientes con agua sin renovar.			
No se visualiza cajones o canastos alrededor del coche de venta que sirvan de almacén para materias primas, utensilios o cualquier otro material			
<b>TRANSPORTE</b>			
El coche de venta no sirve de transporte a la materia prima			
La materia prima es transportada en un vehículo particular a su lugar de venta			
Durante el transporte la materia prima no tiene contacto con productos que pueden llegar a ser un contaminante (animales, químicos, otros alimentos) o están en contacto con el suelo			
<b>COMERCIALIZACIÓN</b>			
Los alimentos preparados que se exponen a la vista del público son colocados en vitrinas cerradas			
Los alimentos son comercializados utilizando material desechable en caso contrario se usa material inalterable o inoxidable y son lavados con agua potable circulante y jabón después de cada utilización.			
Materiales de plástico o papel (cucharas, servilletas) que se sirven en conjunto con el ceviche son de primer uso.			
No existe alimentos que estén en contacto con el piso			
No se da una manipulación de alimentos y dinero en forma conjunta			
No se comercializa otro tipo de alimento en el mismo coche.			
<b>SANEAMIENTO</b>			
En el lugar de venta se visualiza un contenedor para desperdicios, de material de fácil limpieza, con tapa y con una funda plástica para facilitar su eliminación.			
El expendedor lleva una correcta limpieza del puesto y áreas adyacentes.			
<b>Evaluadora:</b> CRISTINA CALDERON	<b>Firma:</b>		

**Fuente:** (Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2013); (Montero, Celaya y Martín, 2019); (Quispe y Sanchez, 2001). (Tenemaza, 2014)

**Realizado por:** Calderón, C. 2020

**ANEXO B** Procesamiento de muestras



Desinfección de muestras



Homogenizado de muestras



Pesaje de muestras



Homogenizado de muestras en equipo Stomacher



Diluciones madre 10<sup>-1</sup>

## ANEXO C Siembra de microorganismos



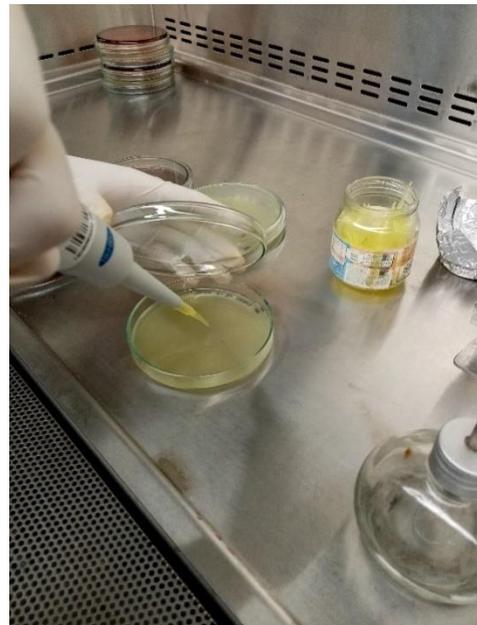
Limpieza y desinfección de cámara de flujo laminar



Preparación de diluciones



Medición de dilución con micropipeta



Vertido de muestra en agar Baird Parker



Extensión de muestra en agar con asa de Drigalsky.



Siembra de diluciones en agar EMB, Baird Parker, PCA y caldo tetratonato.

ANEXO D Lectura de resultados



Contaje de Enterobacterias



Muestra positiva para *Escherichia coli*



Contaje de *Staphylococcus aureus*



Contaje de Aerobios Mesófilos



Muestras sembradas en agar Salmonella-Shigella



Pruebas bioquímicas de muestra de chocho.

## ANEXO E Cálculos empleados para el recuento de microorganismos

### Método de cálculo: caso general

Para que el recuento sea válido, se considera necesario que el recuento de colonias se realice al menos en una placa que contenga como mínimo 10 colonias.

$$N = \frac{\sum C}{V \times 1,1 \times d}$$

Donde:

$\sum C$ : es la suma de colonias contadas en dos placas de dos diluciones consecutivas, donde al menos una contiene un al menos 10 colonias;

V: volumen de inóculo utilizado en cada placa, en mililitros;

d: dilución correspondiente a la primera dilución elegida (d = 1 cuando se utiliza el producto líquido sin diluir) (ANMAT, 2017<sup>a</sup>, p.31).

### Método de cálculo para recuento bajo: en el caso que una placa contiene menos de 10 colonias

- Si la placa contiene menos de 10 colonias, pero mínimo 4, el resultado se calcula siguiendo el caso general y se expresa como: “el número estimado de microorganismos x por mililitro (productos líquidos) o por gramo (resto de productos)”.

- Si el resultado oscila entre 1 y 3, la precisión del análisis es muy baja y el resultado se expresa como: “hay microorganismos presentes, pero a un nivel inferior a (4xdilución) por gramo o ml”.

Si la dilución inoculada es 10<sup>-1</sup> y se sembró 1 ml: “Hay microorganismos presentes, pero a un nivel inferior a 40 UFC/g ó ml”

Si la dilución inoculada es 10<sup>-1</sup> y se sembró 0.1 ml: “Hay microorganismos presentes, pero a un nivel inferior a 400 UFC/g ó ml” (ANMAT, 2017<sup>a</sup>, p.32).

### Método de cálculo para el caso en el que la placa no contiene colonias

Si la placa que contiene la muestra para análisis o la primera dilución inoculada o escogida no contiene colonias, el resultado se expresa de la siguiente manera:

“Menos de 1/d microorganismos por mililitro” (productos líquidos)

“Menos de 1/d microorganismos por gramo” (resto de los productos).

Donde  $d$  es el factor de dilución de la suspensión inicial, o la primera dilución inoculada o escogida -

Si la dilución más concentrada sembrada fue  $10^{-1}$  y se sembró 1 ml el resultado es  $< 10$  UFC /ml o g (ANMAT, 2017<sup>a</sup>, p.32).

**Método de cálculo para el caso en el que la placa contiene más de 300 colonias**

Si el recuento de colonias en todas las placas de todas las diluciones es incontable, mayor a 300, el resultado se expresa de la siguiente manera:

“Más de  $300/d$  microorganismos /g ó ml”

Donde  $d$  es la dilución correspondiente a la última dilución escogida (ANMAT, 2017<sup>a</sup>, p.33)

**ANEXO F** Instructivo para manipuladores

**INSTRUCTIVO PARA LA PREPARACIÓN Y VENTA DE CEVICHES DE CHOCHOS EN PUESTOS AMBULATORIOS**

**Objetivo:** Describir las normas higiénicas y sanitarias que los manipuladores de alimentos deben aplicar durante todo el proceso de elaboración de ceviches de chochos hasta su expendio para garantizar un producto final de calidad.

<b>ETAPA</b>	<b>Descripción de la Actividad</b>	<b>Recursos</b>	<b>Protocolo</b>	<b>Responsable</b>
<b>Selección y Recepción de la materia prima</b>	<p>Revisar el estado de conservación de la materia prima.</p> <p>Revisar olor, color, textura. Chocho (sabor amargo).</p>	<p>Lugares confiables para la adquisición de la materia prima.</p> <p>Listado de productos.</p>	<p>Adquisición de materia prima fresca y de buena calidad a la vista.</p> <p>Materia prima libre de moho o daños físicos muy notables.</p> <p>Hortalizas y Verduras:</p> <p>Tomates: Firme y piel del tomate lisa al tocarlo, sin marchas,</p> <p>Cebollas: Se deberán encontrar duras, que no se encuentren húmedas o mojadas y sin muchas manchas.</p> <p>Cilandro: Las hojas deben ser de un color verde intenso, sin manchas.</p> <p>Cuero: Color adecuado, sin olores extraños a descomposición o podrido.</p> <p>Chocho: Verificar que no tenga sabor amargo.</p> <p>Adquirir cantidades que no superen requerimientos para tres o cuatro días.</p>	Manipulador de alimentos.
<b>Almacenamiento de la materia prima</b>	<p>Lugar de almacenamiento limpio, seco y fresco, colocando alimentos en recipientes al igual limpios y en buen estado.</p>	<p>Recipientes adecuados para el almacenamiento</p>	<p>Mantener recipientes de almacenamiento limpios, secos y fresco, sin sustancias indeseables.</p> <p>Revisar periódicamente los recipientes de almacenamiento para identificar deterioros.</p> <p>Evitar colocar alimentos en los mismos recipientes de almacenamiento, pues puede ocasionar una contaminación de uno con otro.</p>	Manipulador de alimentos

<b>Condiciones higiénicas del coche de venta</b>	Mantener en buen estado el coche de venta y sus superficies que puedan estar en contacto con alimentos.	Coche en buen estado de conservación	Lavar con agua y detergente antes y después de la venta. Raspar y eliminar por completo residuos sólidos. Enjuagar siempre con agua potable o en caso contrario utilizar agua con cloro (echar 1 cucharas de cloro en 1 galón de agua) Secar al aire preferiblemente, evitando el uso de trapos. Desinfectar superficies constantemente (con agua y cloro), varias veces en el día). Opción: uso de papel de cocina.	Manipulador de alimentos.
<b>Preparación del ceviche de chocho</b>	Limpieza de utensilios y recipientes para el almacenamiento  Preparación previa de ingredientes  Mezcla de ingredientes	Soluciones de desinfección (solución de hipoclorito de sodio 0,05%) para superficies.  Solución de hipoclorito 0.02% para desinfectar alimentos (tomate, cebolla, limón, cilantro)  Para eliminar microorganismos patógenos del chocho se recomienda hacerles hervir.  Materiales de limpieza (esponjas, franelas)  Materia prima desinfectada  Utensilios y recipientes desinfectados  Condiciones de preparación y del manipulador	Verificación de limpieza de materia prima y utensilios.  El manipulador previo a la preparación debe contar con los equipos de bioseguridad (mascarilla, guantes, redo o gorro) necesarios para evitar la contaminación de los alimentos.  El manipulador debe evitar al momento de la preparación y mezcla de ingredientes tomar con la mano los alimentos, siempre tener utensilios como cucharas o similares para cada ingrediente.  Verificación de limpieza de áreas donde se vayan a preparar los ingredientes.  Verificar que el agua de uso sea potable y no interfiera en la calidad del alimento.	Manipulador de alimentos
<b>Comercialización</b>	Recepción del dinero  Entrega del producto	Condiciones del manipulador  Recipiente para desinfección de dinero  Condiciones del comprador  Recolector de desechos generados	El manipulador al momento del cobro del dinero debe de hacerlo con guantes y posterior desinfectarse, caso contrario optar por la opción de tener una segunda persona quien sea el responsable del cobro.  El dinero recibido debe ser desinfectado en un área separada al de la preparación, así mismo el dinero que se entregue debe ser inocuo para el consumidor.	Manipulador de alimentos  Consumidor

			<p>Asegurarse que el consumidor cumpla con las respectivas normas de bioseguridad: distanciamiento y uso de mascarilla.</p> <p>Entrega el producto en material desechable de uso único, caso contrario servir en platos de porcelana o material inalterable que en lo posterior sean lavados con agua potable y jabón de platos.</p> <p>Asegurar un lugar de desechos generados por el manipulador y consumidor de preferencia tener recipientes por separado.</p> <p>Limpieza constante del lugar de venta y alrededores, con soluciones de desinfección.</p>	
--	--	--	--	--

**Realizado por:** Calderón, C. 2021



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS PARA EL  
APRENDIZAJE Y LA INVESTIGACIÓN**



**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS**  
**REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

**Fecha de entrega:** 18 / 03 / 2021

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Cristina Anabel Calderón Guijarro
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias
<b>Carrera:</b> Bioquímica y Farmacia
<b>Título a optar:</b> Bioquímica Farmacéutica
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> Lic. Luis Caminos Vargas Mgs.

**LUIS ALBERTO  
CAMINOS  
VARGAS**

Firmado digitalmente por LUIS  
ALBERTO CAMINOS VARGAS  
Nombre de reconocimiento (DN):  
c=EC, l=RIOBAMBA,  
serialNumber=0602766974,  
cn=LUIS ALBERTO CAMINOS  
VARGAS  
Fecha: 2021.03.18 15:45:59 -05'00'



**0734-DBRAI-UPT-2021**